

馬の喉頭片麻痺における経皮的超音波
画像診断法による背側披裂輪状筋の
描出と評価に関する研究

酪農学園大学大学院
獣医学研究科
獣医学専攻博士課程

佐藤 正 人

獣医麻醉学
指導教員 教授 山下和人

2021 年度

目次

	頁
凡例	1
緒言	2
第Ⅰ章 日本国内における馬の喉頭片麻痺に対する喉頭形成術の実施状況	
1.1 小 緒	6
1.2 材料および方法	
1.2.1 調査対象	7
1.2.2 喉頭形成術の実施率算出法	8
1.3 成績	9
1.4 考 察	12
1.5 小 括	14
第Ⅱ章 経皮的超音波画像診断法による馬の背側披裂輪状筋の描出法の検討	
2.1 小 緒	15
2.2 材料および方法	
2.2.1 屠体材料を用いた背側披裂輪状筋描出法	16
2.2.2 生体での経皮的超音波画像診断法による背側披裂輪状筋描出法	17
2.2.3 経皮的超音波画像診断法による背側披裂輪状筋描出像における計測項目	18
2.2.4 統計学的分析	18
2.3 成績	
2.3.1 屠体材料を用いた喉頭超音波像の描出	21
2.3.2 生体での経皮的喉頭超音波画像の描出	21
2.3.3 経皮的超音波画像診断法による背側披裂輪状筋描出像における計測	21
2.4 考 察	23
2.5 小 括	25

第Ⅲ章 経皮的超音波画像診断法を用いた背側披裂輪状筋の評価による馬喉頭片麻痺の 診断法の開発	
3.1 小 緒	26
3.2 材料および方法	
3.2.1 供試馬	27
3.2.2 安静時喉頭内視鏡検査法	27
3.2.3 経皮的喉頭超音波検査法	28
3.2.4 背側披裂輪状筋の厚さの実測と喉頭形成術	30
3.2.5 統計学的分析	31
3.3 成 績	
3.3.1 供試馬における安静時喉頭内視鏡グレードの分類	32
3.3.2 経皮的喉頭超音波検査による背側披裂輪状筋描出における背側披裂輪状筋の 評価	33
3.3.3 安静時喉頭内視鏡グレードと経皮的喉頭超音波背側披裂輪状筋描出像の 関連	36
3.3.4 左背側披裂輪状筋の厚さの実測値と経皮的喉頭超音波背側披裂輪状筋描出法 における計測値の比較	39
3.4 考 察	40
3.5 小 括	44
第Ⅳ章 経皮的喉頭超音波検査法の臨床応用	
4.1 小 緒	45
4.2 材料および方法	
4.2.1 供試馬	46
4.2.2 安静時喉頭内視鏡検査	46
4.2.3 経皮的喉頭超音波検査	46
4.3 成 績	
4.3.1 安静時喉頭内視鏡検査所見	47
4.3.2 経皮的喉頭超音波検査所見	48
4.3.2.1 反回喉頭神経障害の経皮的喉頭超音波検査所見	49
4.3.2.2 第四鰓弓欠損症の経皮的喉頭超音波検査所見	50
4.3.2.3 輪状軟骨矢状陵背側突起の欠損の経皮的喉頭超音波検査所見	51

4.3.2.4 披裂軟骨炎の経皮的喉頭超音波検査所見	52
4.3.2.5 披裂軟骨筋突起形成不全の経皮的喉頭超音波検査所見	53
4.3.3 供試馬に実施した治療	54
4.4 考 察	55
4.5 小 括	57
総 括	58
謝 辞	62
引用文献	63
英文要旨	71

凡 例

- RLN: Recurrent laryngeal neuropathy, 反回喉頭神經障害
CAD: Cricothyroideus dorsalis muscle, 背側披裂輪狀筋
LCAD: Left cricothyroideus dorsalis muscle, 左背側披裂輪狀筋
RCAD: Right cricothyroideus dorsalis muscle, 右背側披裂輪狀筋
CAL: Cricothyroideus lateralis muscle, 外側披裂輪狀筋
CC: Cricoid cartilage, 輪狀軟骨
AC: Arytenoid cartilage, 披裂軟骨
TC: Thyroid cartilage, 甲状軟骨
MPA: Muscular process of the arytenoid cartilage, 披裂軟骨筋突起
LP: Laryngoplasty, 喉頭形成術
US: Ultrasonography, 超音波検査
CT: Computed tomography, コンピュータ断層撮影
MRI: Magnetic resonance imaging, 磁気共鳴画像法
OGE: Over ground endoscopy, 運動時内視鏡検査

緒言

わが国における馬の飼養頭数は 1994 年に 12 万頭を超えていたが、その後減少して 2011 年以降は 7 万 5 千頭余りで推移している[65]。現在飼養されている馬のうち約 4 万 3 千頭は軽種馬であり、競走馬は約 1 万 9 千頭が飼養されている[65]。これらの競走馬はすべてサラブレッド種であり、年間 3 兆 6 千億円を超える競馬の売得金を支えている[66]。サラブレッド種では毎年 7 千頭程度の産駒が生産され、競走馬として育成されている。これらの育成馬が競馬場で競走馬としてデビューするためには、様々な関門を乗り越える必要がある。その中でも競走馬には非常に強い運動時に十分な呼吸機能を発揮する能力が必要不可欠であり、呼吸機能は育成馬が競走馬となるための最大にして最低限のファクターといっても過言ではない。

競走馬の最大運動時の呼吸数は約 150 回/分にも達し、上部気道を通る空気の流速は安静時の約 30 倍にもなる[25]。また、Cloudio ら[15]は、スタンダードブレッド種において安静時の分時換気量が 89L/分であるのに対して、トレッドミルによる強運動時では 860L/分にまで増大することを示している[15]。最大運動時には吸気時に上部気道内へ空気を引き込む力が非常に大きくなるが、競走馬ならびに育成馬に咽喉頭部の構造的異常や機能障害が存在すると気道内の空気の流れが阻害され運動能力の低下(プアパフォーマンス)が引き起こされる。このプアパフォーマンスは最大運動時の気流変化や酸素欠乏による筋肉疲労によって引き起こされるとともに、酸素欠乏を認識した馬自身による運動拒絶によっても引き起こされている [24]。

馬の上部気道疾患の種類は多く、その中でも反回喉頭神経障害 (Recurrent laryngeal neuropathy, RLN) は代表的な疾患であり、競走馬としてのトレーニングを受ける育成馬に立ちはだかる関門の一つである。米国で 1800 年代に刊行された成書『Roaring in horse』 [37]には、馬の喘鳴として古い装蹄所の労働者や馬の取引業者の間で *roarers* (うなる人)、*pipers* (管楽器奏者)、*wheezers* (ぜいぜい息をする人)、*whistlers* (口笛を吹く人)、*grunters* (ブウブウいう動物) などと様々な名称で呼ばれていたと記載されていたと紹介されている[37]。その後 1900 年代に入り、「馬の喘鳴」の原因や発症メカニズムの解明が進む中で、その多くが左側のみで発症することが判明した[16, 31, 58]。馬の左側迷走神経は大動脈弓を反回した後に左側喉頭まで走行し、背側披裂輪状筋 (*Cricothyroideus dorsalis muscle*, CAD) および外側披裂輪状筋 (*Cricothyroideus lateralis muscle*, CAL) を支配することはよく知られた事実である[14]。このように左右の迷走神経の走行には差があり、そのことが馬の喉頭片麻痺が左側で多い要因とされている[32]。また、Cahil ら[9]は電子顕微鏡を用いて RLN 発症馬の喉頭神経を検索し、左右の

喉頭神経に同様の变化は認められるものの神経線維密度の左右差や CAL 支配部位における左側喉頭神経の神経線維径の減少を証明している。RLN では空気抵抗が生じ喘鳴を発する原因が披裂軟骨小角突起の軸側への虚脱により声門裂を狭窄することから、その動かない小角突起を示して喉頭片麻痺 (Laryngeal hemiplegia) という用語が使用されるようになったが、「麻痺」という用語は完全にまったく動かない状況を示すため、様々な程度の不完全麻痺を含むこの疾病に欧米では RLN という用語を使用することが一般的となった[72]。わが国でも古くから「喘鳴症(のどなり)」と呼ばれる馬の上部気道症候群が知られ[63]、RLN がその主要な原因として捉えられているが、馬臨床では現在も「喉頭片麻痺」という疾患名が広く用いられている[49, 50, 62, 63, 78, 82]。

馬の RLN の発症要因は、披裂軟骨小角突起の動きを司る反回喉頭神経の障害とされている[13, 33, 58]。わが国における馬の RLN の発生状況は確認されていないが、欧米におけるその発症率は3~8%と様々である[17, 44, 65, 68]。馬の RLN においては、その病因の解明とともに診断治療法も様々開発されており、1892 年に Cadot [6]が初めて馬の喉頭形成術 (Laryngoplasty, LP) に関して報告したが、1920 年頃より Hobday 式という声嚢切除を実施する手技が最も主流な外科的アプローチであった[48]。1970 年に合成プロテアーゼを用いた LP [58] が初めて報告されて以降、術式の改良や使用するインプラントの選択に関する多くの検討が報告され、近年では立位鎮静下での LP に関する検討も報告されている[2, 5, 77]。また、LP により最大外転時の 88%の外転を維持できれば、最大吸気量の減少率を 4%以内に抑えられることが報告されている[72]。

気管声門裂は左右の裂披軟骨小角突起と喉頭蓋で形成され、呼吸時には左右の小角突起が筋肉の収縮によって外転、内転される。喉頭内視鏡検査はこの喉頭の運動機能を目視できることが最も有利な点であり、馬の RLN の診断法として安静時喉頭内視鏡検査が広く利用されるようになった。1990 年にはトレッドミル運動中の馬の喉頭内視鏡検査が報告され[64]、安静時喉頭内視鏡検査との所見の違いが明確にされた。その後には喉頭内視鏡の診断機器の進化に伴って騎乗運動中の馬の喉頭内視鏡検査が可能となり、現在では馬に騎乗した運動時内視鏡検査 (Over ground endoscopy, OGE) が上部気道疾患の診断の Golden Standard として応用されている[53, 57, 71]。

前述の通り、RLN は神経障害の結果発症する疾病であり、神経筋疾患として様々な病理組織学的検索も報告され、神経線維数の減少、縮小化および密度の減少による神経原性の筋萎縮と変性および脂肪組織への置換の結果、収縮力の減退が披裂軟骨小角突起の外転機能

を低下させることが示されている[2, 14, 36, 60, 75]。RLN 発症馬では、有髄神経の減少や神経肥大時に認められる脱髄と再ミエリン化の繰り返しの結果起きるシュワン細胞の生成と神経軸索周囲におけるコラーゲンの層状形成による神経線維の鱗茎 (onion bulb) などが認められ、左側遠位部 (喉頭付近) における神経線維密度が正常馬の 26% であったと報告されている[9]。馬の RLN の診断法には、体表から CAD を触診してその萎縮の程度を評価する伝統的な手法がある[3]。2006 年に Chalmers ら[11]によって喉頭周囲の経皮的超音波検査に関する研究が初めて報告されて以降、喉頭周囲の筋肉、とくに披裂軟骨小角突起を内転させる CAL の評価における超音波検査の重要性が報告されてきた[11, 13, 40, 42, 43]。CAL は甲状軟骨と披裂軟骨の間に存在し、披裂軟骨を外転させる CAD を支配する神経からさらに長い走行の後に筋肉に分布するとされている[14]。したがって、喉頭筋の神経障害の発現は CAL で CAD より早くより強いとされ、馬の RLN における診断価値が高いとされてきた[29, 31, 34]。馬の喉頭超音波検査において、変性した筋肉は高輝度に描出されることが証明されており[11]、馬の RLN では Chalmers ら[12]が筋肉の筋線維の減少に継発して膠原繊維に置き換わることや筋線維の脱水と最終的に脂肪組織への置換に伴って超音波画像では高輝度に描出されることを報告している。また、運動時喉頭内視鏡検査によって披裂軟骨の運動異常が確認された馬では、CAL 超音波検査においても CAL 超音波輝度の相対的な高エコー源性が一致して確認され、経皮的超音波検査における CAL の輝度評価の診断精度は、馬の上部気道の診断における Golden Standard である OGE との間に高い相関性が証明されている [42]。また、CAL 評価は CAD の状態を推測できることが示唆されており[23]、Garrett [40]は馬の RLN 診断における CAL の超音波検査の有用性を報告している。馬の RLN 症例では CAL はすでに変性しており、CAL 超音波検査は安静時喉頭内視鏡検査に勝るとも劣らない馬の RLN 診断ツールということになる。

一方で CAD は披裂軟骨の外転を司る唯一の筋肉であり、輪状軟骨矢状稜への付着角度により内側と外側のコンパートメントに分かれ、披裂軟骨の外転には外側コンパートメントがより大きく影響を及ぼすとされている[14]。CAD は馬の RLN を考える上で重要な筋肉であることが認知されており、多くの組織学的検索に関する報告で神経原性変化が証明されてきた[26-28]。しかしながら、超音波検査による評価に関しては、その解剖学的位置から馬の体表からの CAD へのアプローチは困難とされていた[11]。2015 年に Kenny ら[54]によって心臓用経食道プローブとコンピューター断層撮影 (CT) を用いた CAD に関する研究が報告され、馬の RLN 症例では右側背側披裂輪状筋 (Right cricoarytenoideus dorsalis muscle, RCAD) と比較して左側背側披裂輪状筋 (Left cricoarytenoideus dorsalis muscle, LCAD) は有意に萎縮していることが示

された。また、RLN 症例では正常馬に比較して CAD の体積が筋肉中心部では約 20%および尾側位では約 10%減少することが確認され、運動中の声帯および披裂軟骨の虚脱の可能性が示唆された[54]。しかしながら、これまでの既報における CAL 評価はその超音波輝度により質的变化を評価するものであり、その量的変化を評価することはできない[11, 13, 40, 42]。よって、超音波検査で CAD を直接的に描出し、CAL では評価できない筋肉量を評価することには大きな意義があると考えられる。また、超音波検査用経食道プローブは高額であり、その使用に対応できる馬臨床施設は国内においては皆無であり、さらにその操作や喉頭超音波像の描出には手技の熟練が必須であり、描出中には馬喉頭に対する侵襲も大きいと考えられる。

現在、運動時喉頭内視鏡検査に関しては国内でも比較的多くの場所で実施可能となっているが、ルーチン検査としての臨床応用はまだ限られているのが現状である。一方、汎用されている超音波検査機器を用いて経皮的にもっと簡便に CAD を描出できれば、経皮的超音波検査法はルーチン検査として実施できる馬の RLN 診断ツールとして、安静時および運動時喉頭内視鏡検査に加えることができると期待される。しかしながら、馬の喉頭正中に位置する CAD は単に体表に超音波プローブを当てても描出できないことは明らかであり、経皮的超音波検査法を馬 RLN の診断ツールとして広く臨床応用するためには馬臨床医が日常診療で利用できる機器を用いた新たな方法の開発が必要である。

そこで本研究では、馬の RLN 診断ツールとして臨床応用できる経皮的超音波画像診断法による CAD 描出法の開発を試みた。具体的には、馬の CAD 描出の最もシンプルな喉頭超音波検査法として反対側から検査側への圧迫により CAD にアプローチする新たな超音波画像描出法を考案し、RLN 馬において LCAD の萎縮や変性を診断できるか否かを検討した。まず、第 I 章でわが国における馬の RLN に対する LP の実施状況を確認した。続いて、第 II 章で今回考案した馬の経皮的喉頭超音波 CAD 描出法の臨床応用への可能性を屠体材料および生体馬を利用して検討し、第 III 章では考案した経皮的超音波 CAD 描出法を用いた馬の RLN 診断法を検討した。最後に、第 IV 章で今回開発した経皮的喉頭超音波 CAD 描出法を日常診療に臨床応用し、その有用性を検討した。なお、本論文のタイトルには、現在でもわが国の馬臨床で広く用いられている「喉頭片麻痺」という疾患名を用いた。

第 I 章

日本国内における馬の喉頭片麻痺に対する喉頭形成術の実施状況

1.1 小 緒

2011 年以降、わが国の馬の飼養頭数は 7 万 5 千頭余りで推移している[65]。そのうち約 6 割の 4 万 3 千頭余りが軽種馬であり、約 1 万 9 千頭の競走馬および約 7 千頭の育成馬が飼養されている[67]。競走馬には非常に強い運動時に十分な呼吸機能を発揮する能力が必要不可欠であり、呼吸機能は育成馬が競走馬となるための重要なファクターである。

馬の上部気道疾患の代表格である RLN は、競走馬および育成馬におけるプアパフォーマンスの原因となり、その程度によっては呼吸機能の回復に外科的介入が必要となる疾患である。欧米では、馬の RLN の発生率は 3～8%と報告されており[2, 53, 74, 77]、軽度の RLN も含めると 1 歳馬の 60%以上で左右非対称の喉頭を認めたという研究報告もある[79]。しかしながら、日本国内で飼養管理されている馬の RLN における疫学的調査は単独の団体や施設において実施されており[49, 52, 63, 82]、わが国における発症率などの全体像は知る由もない。

一方で、生産されたサラブレッド種のほとんどが育成調教から競馬での活動、そして引退まで国内にとどまる日本では、疾患に関する疫学的調査に適した環境にあると思われる。加えて、生産されたサラブレッド種は早い段階で淘汰された産駒を除くと、すべての個体が公益財団法人ジャパン・スタッドブック・インターナショナルにおいて血統登録され、マイクロチップの埋め込みによる個体管理も十分になされている。また、日本国内のサラブレッド種市場では 2006 年より販売申込者の任意で提出される上場育成馬の「四肢レントゲン写真」ならびに「上部気道内視鏡検査動画」を購買者に開示する「レポジトリ」と呼ばれる医療情報の公開システムが開始され、日高軽種馬農業協同組合が開設するサラブレッド 1 歳および 2 歳のすべての北海道市場においても、このレポジトリが導入普及している[78]。したがって、わが国のサラブレッド種の飼養管理環境は馬の疾患に関する疫学的調査に適していると考えられる。また、RLN でプアパフォーマンスを示す競走馬ならびに育成馬には外科的治療法として LP が実施されるが、わが国において馬に外科手術を実施している動物診療施設は少数に限られている。

以上のことから、本章ではわが国におけるプアパフォーマンスの解消に外科手術を要する馬 RLN の発症状況を把握するため、サラブレッド種競走馬/育成馬を対象に RLN に対する LP の実施率に関する多施設調査を実施した。

1.2 材料および方法

1.2.1 調査対象

調査対象は 2015 年から 2020 年の 6 年間に RLN に対する LP を実施したサラブレッド種 597 頭を対象馬とした。これらの供試馬は喘鳴を伴う運動不耐性を示し、安静時喉頭内視鏡において喉頭麻痺のグレーディング[22](表 1-1)でグレード 3 以上であることなどの総合的な評価の上、国内 5 か所の馬二次診療施設(後述)において LP が実施された。

表 1-1. 馬の安静時喉頭内視鏡検査における喉頭麻痺のグレード[22]

グレード	所見	サブグレード
1	披裂軟骨のすべての動きに関して、左右同調、対称であり、最大外転およびその維持が可能である	
2	披裂軟骨の動きは非同時性で、時に左右非対称であるが、最大外転およびその維持が可能である	2a 一時的な非対称、震え、遅れた動きを認める 2b 多くの時間において、患側の披裂軟骨および声帯の不十分な動きにより、左右の声門裂の非対称を認めるが、嚥下、鼻孔閉塞により完全外転およびその維持が可能である。
3	披裂軟骨の動きは非同時性で、非対称である。最大外転は不可能であり維持もできない。	3a 多くの時間において、患側の披裂軟骨および声帯の不十分な動きにより、左右の声門裂の非対称を認めるが、嚥下、鼻孔閉塞により最大外転は可能であるが、維持はできない。 3b 明らかな披裂軟骨の外転筋の衰えと非対称を認める。最大外転は全くできない。 3c 顕著ではあるが、不完全な披裂軟骨の外転筋の衰えと非対称。披裂軟骨はほとんど動かない。
4	披裂軟骨と声帯の完全な不動化	

1.2.2 喉頭形成術の実施率算出法

本調査にご協力頂いた馬二次診療施設は、NOSAI みなみ家畜高度医療センター、社台ホースクリニック、日本中央競馬会美浦トレーニング・センター競走馬診療所、日本中央競馬会栗東トレーニング・センター競走馬診療所および日高軽種馬農業協同組合静内診療所エクアインメディカルセンターの5施設であり、各対象馬に関する個体情報は、NOSAI みなみ家畜高度医療センターの症例については電子カルテシステムより抽出し、その他の施設の症例については各施設の獣医師への聞き取り調査を実施した。

対象馬 597 頭の年齢構成に該当する各年におけるサラブレッド種の血統登録頭数および競走馬登録頭数をジャパン・スタッドブック・インターナショナル[51] より引用し、サラブレッド種の生産頭数(出生頭数)を農林水産省生産局畜産部畜産振興課が集計した馬関係資料[67]より引用して国内のサラブレッド種における LP 実施率を概算した。具体的には、前述の5施設における2015～2020年までのLP実施頭数の合計を血統登録頭数または競走馬登録頭数に対する百分比としてLP実施率を算出した。また、対象馬597頭の年齢構成に応じて出生年別にLP実施頭数の合計を出生頭数に対する百分比としてLP実施率を算出した。

1.3 成績

対象馬 597 頭について、2015～2020 年の各年における手術時の年齢および出生年における血統登録頭数と競走馬登録頭数を表 1-2 に要約した。調査した 5 施設において LP は 2 歳から 9 歳までの馬に実施され、ほぼすべての馬で本格的に調教が開始される 2 歳から現役競走馬に限って手術適応となっていた。2015～2020 年において年間 83～124 頭の馬に LP が実施された。調査した 6 年間に LP が実施された馬の年齢別頭数は 2 歳馬が 247 頭 (41.3%) と最も多く、次いで 3 歳馬が 188 頭 (31.4%) であり、2～3 歳馬で約 7 割を占めた。これに対して 4 歳以上の馬では LP 実施頭数が大きく減少し、4 歳馬 92 頭 (15.4%)、5 歳馬 47 頭 (7.9%) および 6 歳馬 20 頭 (3.4%) であり、7 歳馬、8 歳馬および 9 歳ではわずか 1 頭 (0.17%) ずつであった (図 1-1a)。性別については、牡 478 頭および牝 119 頭であった (図 1-1b)。LP 実施馬における平均体重は $501.5 \pm 34.8\text{kg}$ であった。

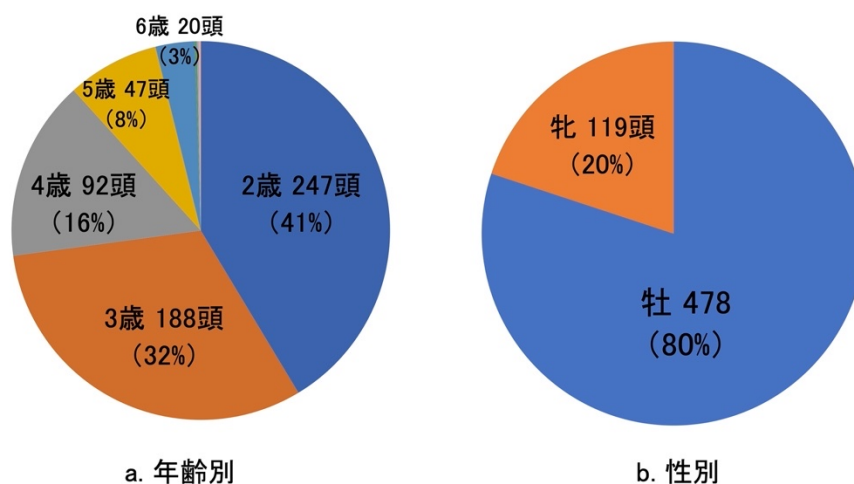


図 1-1. 喉頭形成術実施馬における年齢と性別の内訳

表 1-2 に示した 6 年間分の調査結果のうち LP 実施状況を 2～6 歳の間で網羅できた 2013 年産駒および 2014 年産駒について LP 実施頭数、出生頭数、血統登録頭数および競走馬登録頭数を確認し、その LP 実施率を表 1-3 に示した。2013 および 2014 年産駒の出生頭数は 6,800 頭前後、血統登録頭数は 6,650 頭前後および競走馬登録頭数は 6,150 頭前後であり、2013 および 2014 年に生産されたサラブレッド種の 91.1% および 89.8% が競走馬として登録された。2013 および 2014 年産駒の LP 実施率 (対 競走馬登録数) は、それぞれ 1.92 および 1.81% であった。

表 1-2. 2015～2020 年における国内の馬二次診療施設において喉頭形成術を実施した軽種馬の頭数

	2015 年	2016 年	2017 年	2018 年	2019 年	2020 年
2 歳馬	49 (6,632、6,130)	43 (6,675、6,199)	37 (6,638、6,198)	47 (6,736、6,281)	33 (6,904、6,065)	38 (未掲載)
3 歳馬	21 (6,622、6,103)	46 (6,632、6,130)	43 (6,675、6,199)	32 (6,638、6,198)	21 (6,736、6,281)	25 (6,904、6,065)
4 歳馬	12 (6,844、6,355)	17 (6,622、6,103)	17 (6,632、6,130)	16 (6,675、6,199)	17 (6,638、6,198)	13 (6,736、6,281)
5 歳馬	4 (6,821、6,302)	12 (6,844、6,355)	10 (6,622、6,103)	4 (6,632、6,130)	9 (6,675、6,199)	8 (6,638、6,198)
6 歳馬	3 (7,141、6,576)	6 (6,821、6,302)	3 (6,844、6,355)	5 (6,622、6,103)	2 (6,632、6,130)	1 (6,675、6,199)
7 歳馬	0 (6,949、6,549)	0 (7,141、6,576)	0 (6,821、6,302)	0 (6,844、6,355)	1 (6,622、6,103)	0 (6,632、6,130)
8 歳馬	0 (7,112、6,688)	0 (6,949、6,549)	1 (7,141、6,576)	0 (6,821、6,302)	0 (6,844、6,355)	0 (6,622、6,103)
9 歳馬	0 (7,173、6,680)	0 (7,112、6,688)	1 (6,949、6,549)	0 (7,141、6,576)	0 (6,821、6,302)	0 (6,844、6,355)
合計	89 (55,294、51,383)	124 (54,796、50,902)	112 (54,322、50,412)	104 (54,109、50,144)	83 (53,872、49,633)	85 (47,051、43,331)

下段()内は当該年齢馬の出生年における血統登録頭数と競走馬登録頭数であり、2020 年については未掲載。

表 1-3. サラブレッド種の 2013 および 2014 年産駒における喉頭形成術 (LP) 実施頭数と出生頭数、血統登録頭数および競走馬登録頭数に対する LP 実施率

	2013 年産駒	LP 実施率	2014 年産駒	LP 実施率
出生頭数	6,799	1.73%	6,828	1.64%
血統登録頭数	6,632	1.77%	6,675	1.68%
競走馬登録頭数	6,130	1.92%	6,199	1.81%
LP 実施頭数	118		112	

出生頭数は生産されたサラブレッド種の総数[62]。血統登録頭数は 1 歳時に登録されたサラブレッド種の総数[48]。競走馬登録頭数は中央競馬または地方競馬を問わず競馬場入厩を前提に登録されたサラブレッド種の総数[48]。国内産のサラブレッド種のみであり、輸入馬は含まれない。LP 実施頭数は本調査に協力頂いた馬二次診療施設 5 施設の合計。

1.4 考察

本研究のテーマである RLN 発症馬における新たな診断ツールとして経皮的喉頭超音波画像診断の可能性を検討するにあたり、本章では、国内における RLN に対する LP 実施状況を基に馬の RLN を取り巻く現状の把握を試みた。調査対象のサラブレッド種の 99.4% (594 頭/597 頭) が 2~6 歳において LP が実施され、その約 7 割が 2~3 歳馬であり、LP 実施率は出生頭数の 1.6~1.7% および競走馬登録頭数の 1.8~1.9% であった。2015~2020 年の 6 年間に本調査にご協力頂いた 5 箇所馬二次診療施設以外の診療施設で馬の LP が実施された可能性は否めないが、わが国では少なくともサラブレッド種産駒の 60 頭に 1 頭の割合で RLN によるプアパフォーマンスの解消のために LP が実施されていることが明らかとなった。

馬の RLN は喘鳴と同時に、喉頭内視鏡検査により披裂軟骨小角突起の外転不全を認めても、その馬の調教や出走が可能になるケースも少なくない。また、多くはないと推測されるものの、喘鳴を認めた段階でオーナーの判断により廃用とされる場合や、短距離レースへの出走変更などで競馬を継続できる場合もあり、RLN の発症率調査では診断基準の統一や診療記録の確認が困難と考えられた。そこで、本章では、喘鳴を示し、かつ競走時の明らかな失速や調教中に走ることへの拒絶を示すなどの運動不耐性を認め、安静時喉頭内視鏡検査において喉頭麻痺グレード 3 以上[22]と診断されて LP を実施された馬 597 頭を調査対象とした。また、これらの対象馬のうち 2013 および 2014 年産駒については 2~6 歳までの LP 実施状況を網羅でき、育成調教から競馬活動そして引退までの競走馬としてのライフステージにおける RLN に関する疫学的調査を実施できた。その結果、わが国で生産されたサラブレッド種の 9 割が競走馬として登録され、競走馬登録されたサラブレッド種 6,150 頭前後のうち、少なくとも 1.8~1.9% に RLN によるプアパフォーマンスの解消のために LP が実施されていた。帆保[48]は、咳嗽や異常呼吸音など、呼吸器系の臨床症状を呈して上部気道の内視鏡検査を実施したサラブレッド種 1,008 頭 (2 歳馬 402 頭、3 歳馬 422 頭、4 歳馬 104 頭および 5 歳馬以上 32 頭) において、4 ポイントのグレーディングシステムでグレード 3 以上の喉頭片麻痺を 21 頭に認めたと報告しており、その発生率は 2.1% であった。2003 年に開催された馬の上部気道におけるワークショップにおいて Lane [57] が 1 歳馬 3,497 頭における 5 ポイントのグレーディングシステムを用いた喉頭内視鏡検査の大規模調査結果について報告し、披裂軟骨小角突起の最大外転が不可能なグレード 4 以上の RLN の発生率は 2.0% であったとしている[57]。したがって、本章の結果

は、帆保[46]の喉頭片麻痺や Lane [57]の報告の RLN の発生率に近似していた。わが国においても、欧米とほぼ同様に馬の RLN が発生していると推測される。

田上[82]は、道内の単独の馬二次診療施設において 1998～2008 年に安静時喉頭内視鏡検査において左右不对称が明白で左披裂軟骨はわずかしか外転しない、あるいは左右不对称があり左披裂軟骨の外転が悪い馬において運動時喉頭内視鏡検査を実施し、走行中に左喉頭の虚脱が認められた馬、あるいは運動不耐性を示した馬 302 頭に LP を実施し、2 歳馬 136 頭、3 歳馬 93 頭、4 歳馬 41 頭および 5 歳馬以上 32 頭と 2～3 歳馬が 3/4 を占めたと報告している。本章においても、2015～2020 年に LP を実施した馬において 2～3 歳馬が約 7 割を占めたことから、わが国においては過去 20 年間にわたって LP は育成馬ならびに若い競走馬を中心に実施されていたと推測される。また、帆保[49]は、咳嗽や異常呼吸音などの呼吸器系の臨床症状を呈し上部気道の安静時内視鏡検査を実施したサラブレッド種 1,008 頭において 4 ポイントのグレーディングシステムでグレード 3 以上の喉頭片麻痺を 2 歳馬 10 頭、3 歳馬 5 頭、4 歳馬 2 頭および 5 歳馬以上 4 頭の 21 頭に認め、2～3 歳馬が約 7 割を占めたと報告している。RLN の発症が 2～3 歳馬で多いというこの事実は、国内有数の馬産地である北海道では育成馬が道内で調教を進める過程で RLN を発症することが多いことを示しており、潜在的にはもっと早い段階で喉頭部の筋変性や軽度の外転不全が起きていると示唆された。今後、調教前の 1 歳馬や調教早期の馬において喉頭部の筋変性を馬にストレスを加えることなく容易に評価でき、その後の追跡調査を容易に継続できるスクリーニング検査法が開発されるならば、馬の RLN の病態解明に関してさらに新たな知見を得ることができると期待される。

日本では、サラブレッド種のほぼすべてが競走馬として活躍することを目的として生産される。日本のサラブレッド種産駒は、国内で競走馬として育成されて出走後、一時的な海外出走する馬を除けば、国外で生活するケースは多くない。また、競走生活を終えると、牝馬であればそのほとんどが繁殖牝馬として生産地へ帰ってくる。ごくわずかではあるものの、優秀な成績を残した牝馬は種馬として繋養される。つまり、生産されたサラブレッド種のほぼすべてが国内で繋養管理されることから、日本は競走馬の疾患の疫学的調査に適した環境にあると考えられる。前述のように、調教前の 1 歳馬や調教早期の馬で喉頭部の筋変性の評価とその追跡調査を容易に継続できるスクリーニング検査法の開発によって馬の RLN の病態解明に必要な新たな知見を得ることができると期待される。

1.5 小 括

競走馬には強い運動時に十分な呼吸機能を発揮する能力が必要不可欠であり、呼吸機能は育成馬が競走馬となるための重要なファクターである。馬の RLN はプアパフォーマンスの原因となる上部気道疾患の代表格であり、重篤度により呼吸機能の回復に外科的介入が必要となる。本章ではプアパフォーマンスの解消に外科手術を要する馬 RLN のわが国における発症状況を把握するため、サラブレッド種競走馬/育成馬を対象に RLN に対する LP の実施率に関する多施設調査を実施した。

調査対象は 2015～2020 年の 6 年間に国内 5 か所の馬二次診療施設において RLN に対する LP を実施したサラブレッド種とし、年齢別の LP 実施状況を確認した。また、各年におけるサラブレッド種の血統登録頭数および競走馬登録頭数をジャパン・スタッドブック・インターナショナルより引用し、サラブレッド種の生産頭数(出生頭数)を農林水産省生産局畜産部畜産振興課が集計した馬関係資料より引用して国内のサラブレッド種における LP 実施率を概算した。

LP は 2～8 歳までのサラブレッド種 597 頭に年間 83～124 頭で実施され、2 歳馬が 247 頭(41.3%)と最も多く、次いで 3 歳馬が 188 頭(31.4%)であり、2～3 歳馬で約 7 割を占めた。これに対して 4 歳以上の供試馬では LP 実施頭数が大きく減少し、4 歳馬 92 頭(15.4%)、5 歳馬 47 頭(7.9%)および 6 歳馬 20 頭(3.4%)であり、7 歳馬および 8 歳馬ではわずか 1 頭(0.17%)ずつであった。LP 実施状況を 2～6 歳まで網羅できた 2013 年および 2014 年産駒では、出生頭数は 6,800 頭前後、血統登録頭数は 6,650 頭前後および競走馬登録頭数は 6,150 頭前後であり、生産されたサラブレッド種の 9 割が競走馬として登録され、LP 実施率は競走馬登録頭数に対して 1.90%および 1.83%であった。以上のことから、わが国では、少なくともサラブレッド種産駒の 60 頭に 1 頭の割合で RLN によるプアパフォーマンスの解消のために LP が実施されていることが明らかになった。

RLN の発症が 2～3 歳馬で多いという事実は、国内有数の馬産地である北海道では育成馬が道内で調教を進める過程で RLN を発症することが多いことを示しており、潜在的にはもっと早い段階で喉頭部の筋変性や軽度の外転不全が起きていると示唆された。したがって、調教前の 1 歳馬や調教早期の育成馬にストレスを加えることなく喉頭部の筋変性を容易に反復継続評価可能なスクリーニング検査法を開発することによって、馬の RLN の病態解明に関してさらに新たな知見を得ることができると期待される。

第II章

経皮的超音波画像診断法による馬の背側披裂輪状筋の描出法の検討

2.1 小 緒

第I章において、わが国では少なくともサラブレッド種産駒の60頭に1頭の割合でRLNによるパフォーマンスの解消のためにLPが実施され、その約7割は2～3歳馬に実施されていることが明らかになり、調教前の1歳馬や調教早期の育成馬に喉頭部の筋変性や軽度の外転不全が起きていると示唆された。したがって、馬RLNの病態解明には馬にストレスを加えることなく容易に反復継続実施できる喉頭部のスクリーニング検査法の開発が期待される。

RLNは神経障害の結果発症する疾病であり、神経原性の筋萎縮と変性による筋収縮力の減退が披裂軟骨小角突起の外転機能を低下させる[10, 14, 36, 60, 76]。2006年にChalmersら[11]により喉頭周囲の経皮的超音波検査に関する研究が初めて報告され、喉頭周囲の筋肉、とくに披裂軟骨小角突起を内転させるCALの評価における超音波検査の重要性が報告された[13, 40, 42, 43]。一方でCADもRLNを考える上で重要な筋肉であること認知されており、多くの組織学的検索に関する報告により神経原性変化が証明されてきた[26-28]。2015年にKennyら[54]によって経食道超音波画像診断法とCTを用いたCADに関する研究が報告され、右側RCADと比較し左側のLCADは有意に萎縮していることが示された。RLNの発症時には、声門裂を確保するため披裂軟骨小角突起を外転させる唯一の筋肉であるCADの重要性は周知の事実であるが、その解剖学的な位置により体表からの経皮的超音波画像診断法によるCADの描出は困難とされてきた[11]。これまで、馬のCADの評価は経食道超音波画像診断法やCT、あるいは核磁気共鳴画像(MRI)を適用して評価可能であると報告されている[44, 53]。しかしながら、これらの高度な画像診断機器を常備している馬診療施設は極めて少ない。

一方、超音波検査機器は馬診療施設に広く普及しているが、CADを含めて馬の喉頭は正中に位置することが経皮的超音波描出の妨げとなっている。本章では、CADを検査側の反対側から圧迫するというシンプルな方法により、経皮的超音波画像診断法による馬のCAD描出が可能であるかを検討した。具体的には、まず上部気道疾患のない馬の剖検材料を用いてCADの超音波描出画像を確認し、続いて上部気道疾患のない馬サラブレッド種の生体において考案した経皮的超音波CAD描出法でCADを描出し、臨床応用の可能性を検討した。

2.2 材料および方法

2.2.1 屠体材料を用いた背側披裂輪状筋描出法

上部気道疾患のない馬サラブレッド種5頭(年齢は1~11歳)の提供剖検例を用いて、死亡後60分以内に喉頭部を摘出し、輪状軟骨(Cricoid cartilage, CC)とCADの解剖学的な位置関係、切断面、を矢状断面および横断面で確認した。同時に、喉頭全体を水中で超音波プローブを当てることにより切断面と同様の描出画像を確認した(図2-1)。超音波検査は7.5MHzリニアアレイプローブ(日立アロカメディカル, 東京)と汎用超音波検査機を用い(Prosound α6;日立アロカメディカル, 東京)、撮像設定は同一条件として全例に実施した。

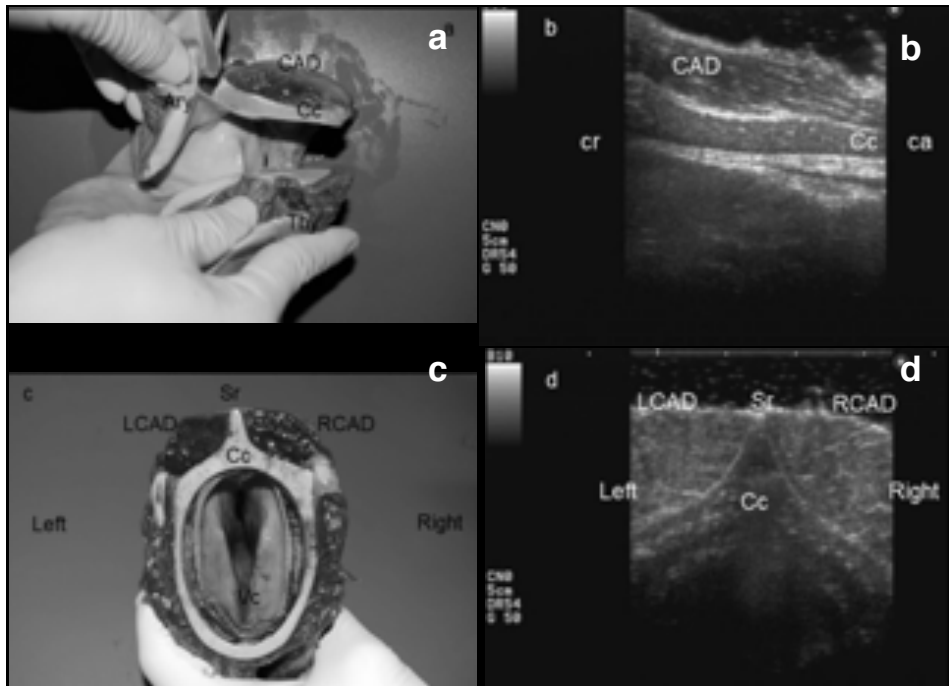


図 2-1. 喉頭軟骨および背側披裂輪状筋の形状と超音波像

屠体材料を用いた喉頭軟骨、背側披裂輪状筋(CAD)の形状の確認(a,c)と喉頭を水中で超音波描出した際の画像(b,d)。aは喉頭(背側披裂輪状筋と輪状軟骨)を背側から解剖刀で頭尾側方向において切離、外側から撮影した写真。cは喉頭(背側披裂輪状筋と輪状軟骨)を背側から解剖刀で内外側において切離、喉頭尾側方向(気管側)から撮影した写真。a-b間における比較により、CAD、輪状軟骨を矢状縦断した際に確認できる形状と水中で超音波描出した際に同一の画像が得られていることが確認できる。c-d間の横断像においても同様。Ary(披裂軟骨)、Thy(甲状軟骨)、Cc(輪状軟骨)、CAD(背側披裂輪状筋)、cr(吻側)、ca(尾側)、LCAD(左側背側披裂輪状筋)、RCAD(右側背側披裂輪状筋)、sr(輪状軟骨矢状隆背側突起)、Vc(声帯)。

2.2.2 生体での経皮的超音波画像診断法による背側披裂輪状筋描出法

供試馬としてNOSAIみなみ家畜高度医療センターへ上部気道疾患の認められない外科手術あるいは検査により来院したサラブレッド 20 頭(平均年齢 1.9 歳, 牡 18 頭, 牝 2 頭, 平均体重 464.5kg)を用いた。これらの供試馬のオーナーに対して今回実施する経皮的喉頭超音波検査は鎮静下で痛みを伴わないことを十分に説明し、インフォームドコンセントを得た。すべての超音波描出ならびに描出画像の測定は、検測者として獣医師 1 名が実施した。

すべての供試馬において安全に経皮的喉頭超音波検査を実施し、さらに検査中の嚥下反射を抑える目的でメドミジン塩酸塩(ドルベネ®; 共立製薬, 東京)を 5~7 μ g/kg を静脈内投与した。供試馬が十分な鎮静下にあることを確認後、供試馬を柵場内へ移動し、経皮的喉頭超音波検査を実施した。経皮的喉頭超音波検査では、供試馬の頭部を自然な位置で伸展し、ねじれや挙上などない様に保定者が保持した。供試馬 18 頭については喉頭部分の剪毛は行わなかったが、2 頭については被毛が長く検査に支障をきたす理由から左右の喉頭部分を剪毛した。良質な画像を得るため、超音波プローブを当てる際には適宜 70%イソプロパノールを塗布した。超音波検査は屠体材料を用いた検討と同様に 7.5MHz リニアアレイプローブ(日立アロカメディカル, 東京)と汎用超音波検査機を用い(Prosound α 6;日立アロカメディカル)、撮像設定は同一とした。

喉頭超音波検査の描出を始めるにあたり、ランドマークとして頭尾側方向水平縦断像により甲状軟骨(Thyroid cartilage, TC)、披裂軟骨(Arytenoid cartilage, AC)および CC の描出から実施した(図 2-2 a, b)。この画像の描出は既報にしたがい[11, 12, 39-42]、大まかに喉頭部位で下顎骨後縁にあたる位置で超音波プローブを設置してわずかな背腹側方向へ調整で描出した。

TC、AC および CC の 3 つの軟骨の描出後、背外側方向矢状断面の画像の描出を試みるために CC が超音波画面中央に位置するように頭尾側方向の超音波プローブ位置を調整し、45~90°背側方向へ移動させた。この際、左側 CAD(LCAD)描出時は検査側の反対側から(右から)超音波プローブを保持している手(左手)と反対の手(右手)で喉頭全体を圧迫し、プローブ操作中も反対側から圧迫し続けた(図 2-2 c, d および 図 2-3 a)。右側 CAD(RCAD)に関しては、左側と反対の手(右手)でプローブを把持、圧迫は左手で実施した。この圧迫手技により背外側から喉頭へアプローチし、CC および CAD の矢状断面の超音波画像を得た。超音波画面上に描出された CAD の最も厚い部分を CAD の厚さとして超音波機器の計測ツールを用いて計測した。

CAD の厚さを計測後、横断像を描出するためプローブ位置を移動した。横断像描出には反対側からの圧迫および背外側からのプローブ位置はそのままに、プローブを手の中で 90°回転させた(図 2-2 e および図 2-3 b)。この手技により、超音波画像を CAD と CC は矢状断面像から横断像へ変化させた(図 2-2 f)。横断像におけるプローブの調整では、CC 背側矢状陵上の背側突起が描出される位置とした。この CC 背側突起の描出によって左右差が限りなく少ない条件で左右の CAD を比較できると考えた。この CC 突起を描出した画面上で左右の CAD は超音波機器の計測ツールを使用し、CC 背側面から CAD 背側面をトレースすることで、断面積を計測した。縦断像および横断像ともに超音波画面は B/B モードとし、左右の比較がしやすい状態で描出した。

2.2.3 経皮的超音波画像診断法による背側披裂輪状筋描出像における計測項目

既報により、CAL も CAD 同様、RLN の馬では正常馬のそれと比較すると超音波画像上では高輝度に描出されることが示されている[7]。そのため、横断像描出後に CAD の超音波所見における色合い(白黒の程度)を数値化することを目的に2つの項目を検討した。第一項目として、単位面積当たりのピクセル数を算出した。算出方法は断面積を計測した画像と同一のものを使用し、超音波機器オリジナルのグレースケール計測ツールであるヒストグラム機能を使用し、トレースした面積の総ドット数を計測、事前に計測した面積で割ることにより単位面積当たりのピクセル数とした。また、第二項目として、超音波のグレースケールは 256 段階で表示されることを利用し、同ヒストグラムにおいてトレースした面積内のすべてのドットの輝度を数値化し、その平均値を算出した平均階調値を超音波輝度とした。超音波ヒストグラム機能におけるドット数、および平均階調値の計測値は使用した超音波機器にあらかじめ備わっていた機能を用いた。

2.2.4 統計学的分析

すべてのデータを平均値 \pm 標準偏差で記載した。厚さ、面積、ピクセル数、および超音波輝度に関して、LCAD と RCAD の間でスチューデントの t 検定を実施した。すべての統計分析は統計分析ソフト(EZR; 自治医科大学さいたま医療センター, 埼玉.)を使用した。いずれの分析結果も $P < 0.05$ で統計学的有意差ありとした。

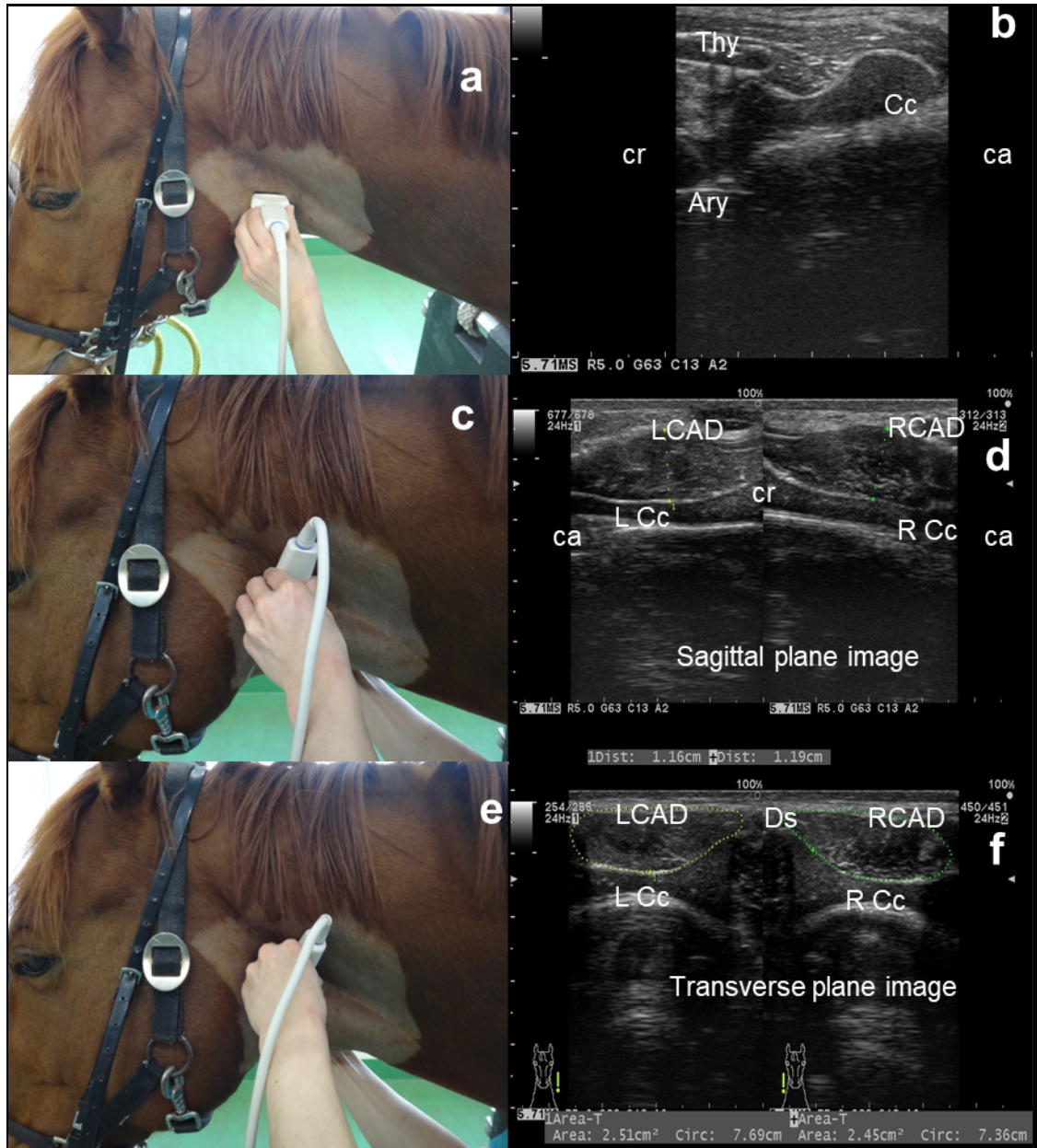


図 2-2. 生体馬における経皮的喉頭超音波画像診断法による背側披裂輪状筋描出法

生体馬における経皮的喉頭超音波検査実施時の外貌写真 (a, c, e)。a-b, c-d, e-f 間において、それぞれの超音波プローブ接着時の超音波画像。a, b: 検査開始時、ランドマークとするベースラインイメージ。c, d: 矢状断面像。e, f: 横断像。Ary (披裂軟骨)、Thy (甲状軟骨)、Cc (輪状軟骨)、L Cc (左側輪状軟骨)、R Cc (右側輪状軟骨) CAD (背側披裂輪状筋)、cr (吻側)、ca (尾側)、LCAD (左側背側披裂輪状筋)、RCAD (右側背側披裂輪状筋)、Sagittal plane image (矢状断面像)、Transverse plane image (横断像)。

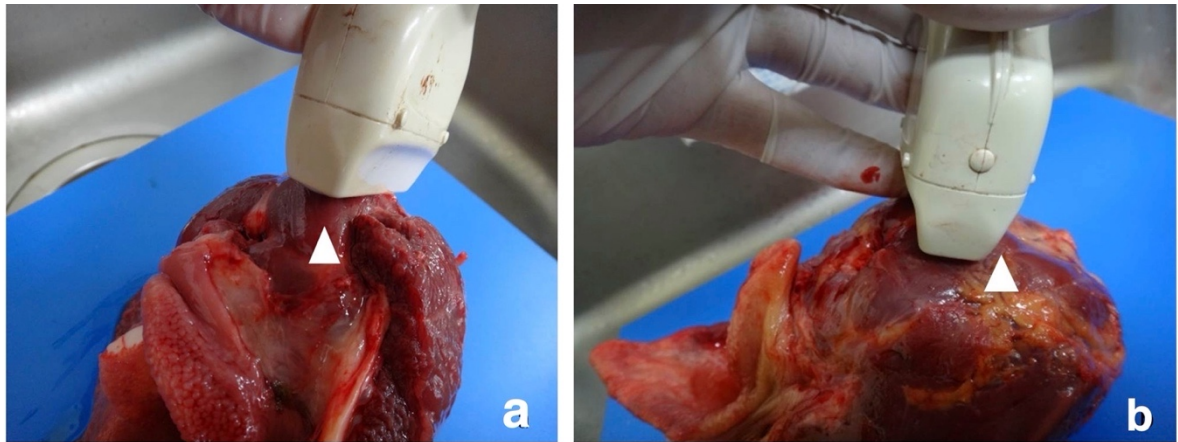


図 2-3. 馬の屠体喉頭材料を用いた超音波プローブの配置イメージ

a: 矢状断面像描出時の背側披裂輪状筋に対する超音波プローブをあてる角度を示したイメージ写真。b: 横断面像描出時の背側披裂輪状筋に対する超音波プローブをあてる角度を示したイメージ写真。矢頭: 背側披裂輪状筋。

2.3 成績

2.3.1 屠体材料を用いた喉頭超音波像の描出

喉頭部を水中において撮像した超音波画像は、縦断像ならびに横断像ともに TC、AC および CC の 3 つの軟骨および左右の CAD についての描出が可能であった。また、喉頭を構成する 3 つの軟骨はいずれも特徴的な形状をしており、その描出と確認は容易であった。TC は水平縦断像において吻側から尾側へ細い楕円形に描出され、CC は同プローブポジションにおいて大小、2 峰性の形状をしており、AC については、TC とほぼ同じ位置の深部において TC よりも若干太い楕円形で描出された。また、CC に関しては背側矢状断面像において細長い楕円形で、背側横断像において背側突起を軸側にラッパ状に広がる形状で描出された。

2.3.2 生体での経皮的喉頭超音波画像の描出

生体における経皮的喉頭超音波画像のランドマークとなる水平縦断像は容易に描出可能であり、3 つの軟骨は屠体材料での検討と同様に特徴的な形状をそのまま描出可能であった。しかしながら、既報[10]と同様に CAD は喉頭正中の CC 上で CC と披裂軟骨筋突起を繋ぐ位置に存在するため、単に超音波プローブを背側方向に移動しても CAD の完全な描出は不可能であった。この問題は超音波プローブを把持している手と反対側から喉頭全体を圧迫するというシンプルな方法で解消可能であった。CAD の厚さ測定(矢状断面像)および面積測定(横断像)ともに馬の正中に位置する喉頭の超音波像描出中には、反対側からの喉頭圧迫を継続する必要があったが、馬が嫌悪感を示すこともなく安全に実施することが可能であった。また、反対側からの圧迫により背外側からのアプローチが容易となり、左右の CAD のほぼ完全かつ診断に値すると思われる綺麗な全体像を描出することが可能であった。

2.3.3 経皮的超音波画像診断法による背側披裂輪状筋描出像における計測

供試馬 20 頭における左右の CAD の厚さ、面積、単位面積当たりのピクセル数および超音波輝度を表 2-1 に示した。CAD の厚さは左右ともに 9 mm 前後、面積は 2cm² 前後、単位面積当たりのピクセル数は 6,300cm² 前後および超音波輝度は 21 前後であり、LCAD と RCAD の間において有意差は認めなかった。

表 2-1. 経皮的超音波による背側披裂輪状筋 (CAD) 描出像における左右の CAD の厚さ、面積、単位面積当たりのピクセル数および超音波輝度

	LCAD	RCAD
厚さ	9.4 ± 1.6 mm	9.2 ± 1.5 mm
面積	2.2 ± 0.5 cm ²	2.3 ± 0.5 cm ²
ピクセル数	6,290.0 ± 315.3/cm ²	6,344.6 ± 288.2/cm ²
超音波輝度	21.9 ± 5.6	21.0 ± 3.8

数値は平均±標準偏差で示す。LCAD:左 CAD、RCAD:右 CAD。すべての項目において左右の CAD の間で有意差は認めなかった $P < 0.05$ 。

2.4 考察

本章では、馬において「検査側の反対側から喉頭を圧迫する」というシンプルな操作を加える経皮的超音波画像診断法による CAD 描出法を考案し、馬生体において屠体材料で確認された超音波画像と同様の形態と質で CAD を描出可能であることを確認した。また、本研究において考案した検査側の反対側から喉頭を圧迫するという操作はシンプルな方法であるものの超音波検査中の馬が許容するかどうかについて確証はなかったが、鎮静下であることもあり、すべての馬でプローブ操作に支障をきたすことはなかった。馬の RLN を考える上で CAD は披裂軟骨の外転を司る唯一の筋肉であり、今回考案した経皮的喉頭超音波による CAD 描出法は RLN の病態解明や診断、治療オプションの選択に臨床応用は多いに広がると期待される。

経皮的超音波画像描出による CAL の評価に関しては既報が複数あり、その有用性が証明されている[11-13, 40, 42, 43]。RLN の所見に関する新しい知見では、Chalmers ら[12]が CAD の筋線維の減少に继发して膠原線維に置き換わることや筋線維の減少と最終的に脂肪組織への置換に伴って超音波画像では高輝度に描出されることを報告している。この報告では、脱神経が起きるとまず筋線維直径が減少し単位面積当たりのコラーゲン量が増加すること、筋線維の萎縮によって生じた間隙には線維性結合組織が増加すること、そして遅れて脂肪組織が増加すること示されている [12]。また、Chalmers ら[12]は超音波所見との比較では、脂肪組織に置き換わる前にはすでに CAD は高輝度に描出されており、コラーゲンの増加が超音波所見に影響するとも考察している。また、人医療では大腿四頭筋や大腿直筋を用いた老齢男女における筋肉の発揮できる力と超音波輝度に関する研究がなされており、変性、すなわち神経原性の影響により前述のような機序で筋力(収縮および牽引力)を失った筋肉は超音波画像では高輝度に描出されることが報告されている[9, 75, 85]。本章では、上部気道疾患のない馬において経皮的超音波 CAD 描出法で観察した左右の CAD の厚さ、面積、単位面積のピクセル数および超音波輝度に差を認めなかった。おそらく、RLN の馬では、CAL と同様に変性した CAD に超音波輝度の上昇を伴う変化を認めると推測され、今回考案した経皮的超音波 CAD 描出法でその変化を検出できると期待される。また、本手法における反対側からの圧迫は検査側への圧迫であり、超音波プローブと検査対象となる CAD の間には皮下組織も存在することから、得られる CAD 超音波画像における輝度や測定値に対して検査中の喉頭圧迫操作による影響はほとんどないと考える。

CADの描出に関しては経食道プローブを用いた超音波検査法やCT検査を用いた方法がすでに報告されているが[54]、それらの特殊な機器は現在、国内の馬臨床現場において広く普及しているとは言えず、臨床応用されるとしてもかなりの時間が必要と考えられ、現実的ではない。今回考案した経皮的喉頭超音波検査法によるCAD描出法では、適度な馬の頸部の伸展や保定、反対側から喉頭全体を圧迫し続けながらの超音波プローブ操作などある程度の熟練は必要であると考えられた。今回の研究においては、検測者は一人であり、他者が実施した際の再現性については今後の研究課題であり、馬の喉頭に関する解剖学的知識や超音波プローブそのものの操作経験の浅い実施者については測定や比較に耐えうる画像を描出できない可能性も考えられる。また、今回の研究で生体において実施した頭数は20頭と少なく、例数を増やしていく際、馬の気性などにより喉頭を圧迫されることで検査そのものを嫌悪する可能性も否定できない。また、実際にLP実施を検討すべき馬の年齢は第一章にもあるように2歳以上の馬であり、その中でも未出走の馬は枠場内で保定されることでパニックを起こすことも想定される。しかし、リニアアレイプローブは世界中で汎用されている超音波診断機器であり、馬臨床でも広く普及している。馬産地日高地域においては、フィールドでの診断として安静時内視鏡検査は開業獣医師を中心に比較的实施可能な状況となっている、さらに本手技であれば習熟に時間は必要かもしれないが、安静時内視鏡検査に加え牧場内でも実施可能である。したがって、この新たな経皮的喉頭超音波によるCAD描出法は育成馬や現役競走馬などに広く実施可能であり、今後、馬のRLNの診断や未だ明らかにされていないRLNの発症原因の研究の発展に大きく寄与するものと考えられる。

2.5 小 括

CAD は披裂軟骨小角突起を外転させる唯一の筋肉であり、馬の RLN の発症に重要であるが、その解剖学的な位置により体表からの経皮的超音波検査による CAD の描出は困難であるとされてきた。本章では、馬において「検査側の反対側から喉頭を圧迫する」というシンプルな操作を加える経皮的超音波 CAD 描出法を考案し、サラブレッド 5 頭の屠体材料を用いて CAD の超音波描出画像を確認し、上気道疾患のないサラブレッド 20 頭の生体において考案した経皮的超音波 CAD 描出法の臨床応用の可能性を検討した。

屠体材料の喉頭部を水中において撮像した超音波画像では、縦断像ならびに横断像ともに TC、AC および CC の 3 つの軟骨および左右の CAD についての描出が可能であった。生体馬における経皮的喉頭超音波のランドマーク画像である水平縦断像は容易に描出可能であり、3 つの軟骨は解剖材料での検討と同様に特徴的な形状をそのまま描出可能であった。既報通り CAD は喉頭正中の CC 上で CC と披裂軟骨筋突起を繋ぐ位置に存在するため、単に超音波プローブを背側方向に移動しても CAD の完全な描出は不可能であったが、超音波プローブを把持している手と反対側から喉頭全体を圧迫するというシンプルな方法で解消できた。矢状断面像および横断像ともに超音波像描出中は反対側からの圧迫を継続する必要があったが、馬が嫌悪感を示すこともなく安全に実施することが可能であった。また、反対側からの圧迫により背外側からのアプローチが容易となり、左右の CAD のほぼ完全かつ診断に値すると思われる綺麗な全体像を描出することができた。

今回考案した経皮的喉頭超音波検査による CAD 描出法では、適度な馬の頸部の伸展や保定、反対側から喉頭全体を圧迫し続けながらの超音波プローブ操作などある程度の熟練は必要であると考えられた。しかし、リニアアレイプローブは世界中で汎用されている超音波診断機器であり、馬臨床でも広く普及している。したがって、この新たな経皮的喉頭超音波検査による CAD 描出法は育成馬や現役競走馬などに広く実施可能であり、今後、馬の RLN の診断や未だ明らかにされていない RLN の発症原因の研究の発展に大きく寄与するものと考えている。

第Ⅲ章

経皮的超音波画像診断法を用いた背側披裂輪状筋の評価による 馬喉頭片麻痺の診断法の開発

小 緒

馬の RLN は慢性的な迷走神経喉頭枝の障害による遠位軸索障害の結果、披裂軟骨を外転させる CAD の萎縮と変性変化により AC の外転機能が喪失し、運動に耐えうる呼吸を確保するだけの声門裂の維持が不可能となり、喘鳴と運動不耐性を呈する[29-35]。近年では喘鳴を呈する馬の上部気道診断は騎乗運動中の喉頭内視鏡検査が Golden Standard となっているが[5, 59, 71]、第Ⅱ章で考案した経皮的喉頭超音波による CAD 描出法も、馬の RLN の診断や発症原因の研究に大きく寄与するものと考えられる。

馬の CAD は 2 つのコンパートメントで構成されており、CC 背側の矢状陵から尾側縁と披裂軟骨筋突起を繋いでその牽引により披裂軟骨小角突起を外転させる[14]。CAD の内外 2 つのコンパートメントの機能については、外側コンパートメントがより強い披裂軟骨小角突起の外転機能を司るとされている[14]。人医療において、筋肉の超音波輝度と動力計を用いた筋力の測定値との間には負の相関が認められており [8, 75, 86]、超音波輝度が高くなるほど筋力は落ちるとされている。Chalmers ら[12]は実験的に右側 CAD 支配神経を切断して RLN を作成し、右披裂軟骨の完全虚脱を確認した。その後、リニアアレイプローブを用いて CAL を、経食道心臓用プローブを用いて CAD を超音波描出し、輝度を評価した後、病理組織学的検索を実施している。CAD にはまず筋線維の萎縮が先行して起こり、その結果 CAD の超音波輝度が上昇し、次いで、膠原繊維の増加を認めたと報告した。よって、筋肉の超音波高輝度像は筋線維の萎縮と膠原繊維の増加を示唆する。

第Ⅱ章で考案した経皮的喉頭超音波検査による CAD 描出法では、左右の CAD の厚さ、断面積、単位面積当たりのピクセル数および超音波輝度などの超音波画像評価が可能であった。本章では、サラブレッド種育成馬または競走馬 164 頭においてこの経皮的喉頭超音波による CAD 描出法を用いて超音波画像評価を実施し、RLN のない馬と RLN の症状を示す馬について左右 CAD の超音波像を比較検討した。

3.2 材料および方法

3.2.1 供試馬

NOSAI みなみ家畜高度医療センターにおいて上部気道検査を実施したサラブレッド種育成馬または競走馬 164 頭を用いた。これらの供試馬は牡 134 頭、牝 29 頭および騙馬 1 頭であり、年齢は 1~6 歳(中央値 2.8 歳)、体重は 401~580kg(平均 495.6kg)であった。上部気道検査を実施する際には、これらの供試馬のすべてのオーナーに対して今回実施する安静時喉頭内視鏡検査および経皮的喉頭超音波検査は非侵襲的検査であり、経皮的喉頭超音波検査は鎮静下で痛みを伴わないことを十分に説明し、インフォームドコンセントを得た。また、臨床上「正常馬」としてコントロール群に設定した正規性を担保する頭数の馬を含むすべての供試馬は、日本実験動物学会の「動物実験を適切に実施するためのガイドライン」(<https://www.scj.go.jp/ja/info/kohyo/pdf/kohyo-20-k16-2e.pdf>)に準拠して取り扱った。さらに、安静時喉頭内視鏡検査および経皮的喉頭超音波検査は不定期非盲目的に行った。

3.2.2 安静時喉頭内視鏡検査法

すべての供試馬において、安静時喉頭内視鏡検査を無鎮静および鼻捻保定下で実施した。安静時喉頭内視鏡検査では、内視鏡を右鼻孔より挿入し、内視鏡先端が喉頭を映した後に約 1 分間 3 回の嚥下反射を含み、少なくとも正常外転が可能である右側披裂軟骨小角突起の十分な最大外転を確認した。既報[21]にしたがい、右側披裂軟骨小角突起最大外転時の左披裂軟骨小角突起の外転位置によって安静時喉頭内視鏡グレードを分類した。安静時喉頭内視鏡グレードはサブグレードを含む 7 ポイントグレーディングシステムにおいて評価した(第 I 章の表 1-1 参照)。具体的には、グレード 1 は 1 ポイント、グレード 2a は 2 ポイント、グレード 2b は 3 ポイント、グレード 3a は 4 ポイント、グレード 3b は 5 ポイント、グレード 3c は 6 ポイントおよびグレード 4 は 7 ポイントとした。

安静時喉頭内視鏡グレードのグレード 1 とグレード 2 と分類され、稟告により異常呼吸音(喘鳴)を認めなかった供試馬を臨床上「正常馬」とし、正規性を担保する頭数(後述)の馬をコントロール群に設定した。稟告により運動時の喘鳴を認め、安静時喉頭内視鏡グレード 3 と 4 の供試馬は臨床上「RLN 馬」として RLN 群に設定した。RLN 群のすべての供試馬には喉頭形成術および左右の声帯切除術を実施した。

3.2.3 経皮的喉頭超音波検査法

すべての経皮的喉頭超音波検査では、人馬ともに安全のためと検査中に反対側からの喉頭を圧迫することによる嚥下反射の抑制のため柵場内鎮静下で実施した。安静時喉頭内視鏡の後、すべての供試馬をメデトミジン 5~7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ドルベネ注[®]; 共立製薬, 東京)の静脈内投与により十分な鎮静を確認した後、今回考案した経皮的喉頭超音波検査法による CAD 描出法で CAD 超音波画像評価を行った。第 II 章と同様にすべての超音波検査は 7.5MHz リニアアレイプローブ(日立アロカメディカル, 東京)と汎用超音波検査機を用い(Prosound $\alpha 6$; 日立アロカメディカル)、撮像設定は同一とした。左右の喉頭周囲の剪毛を実施した後、超音波プローブ設置部位に 70%イソプロパノールを塗布し、超音波検査を実施した。コントロール群 30 頭については剪毛せずに超音波検査を行った。経皮的喉頭超音波は第 II 章における経皮的喉頭超音波による CAD 描出法に準じて実施し CAD、CC の背外側アプローチによる矢状断面像、横断画像を記録した(図 3-1)。

矢状断面像においては、CAD を垂直に縦断しなければ正確な厚さの計測にはならないため、CAD 腹側に位置する輪状軟骨の背側および腹側のラインを綺麗に描出するように超音波プローブ調整を行った。左右の CAD を比較する際、頭尾側方向の位置を同一にするため、横断像に関しては輪状軟骨背側にある矢状陵に存在する背側突起を含む位置で描出した。

経皮的喉頭超音波による CAD 描出法は左右の喉頭において 2 回実施し、左右でプローブ保持と喉頭の圧迫は手を変えて実施した(左側検査:左手プローブ保持および右手喉頭圧迫, 右側検査:右手プローブ保持および左手喉頭圧迫)。経皮的喉頭超音波検査後、超音波画面上において軸族縦断像による左右の CAD の厚さおよび横断像による断面積、単位面積当たりのピクセル数および超音波輝度を計測した。左右の CAD の厚さおよび面積については 2 回の経皮的喉頭超音波 CAD 描出で保存した画像それぞれで計測を実施し、平均値を算出した。ピクセル数、超音波輝度の計測については、第 II 章と同様の手法で、超音波機器オリジナルのグレースケール計測のヒストグラム機能を使用し、横断像を用いて実施した(日立アロカオリジナルソフトウェア; 日立アロカメディカル, 東京)。記録超音波画像の計測は、検測者として獣医師 1 名が実施した。

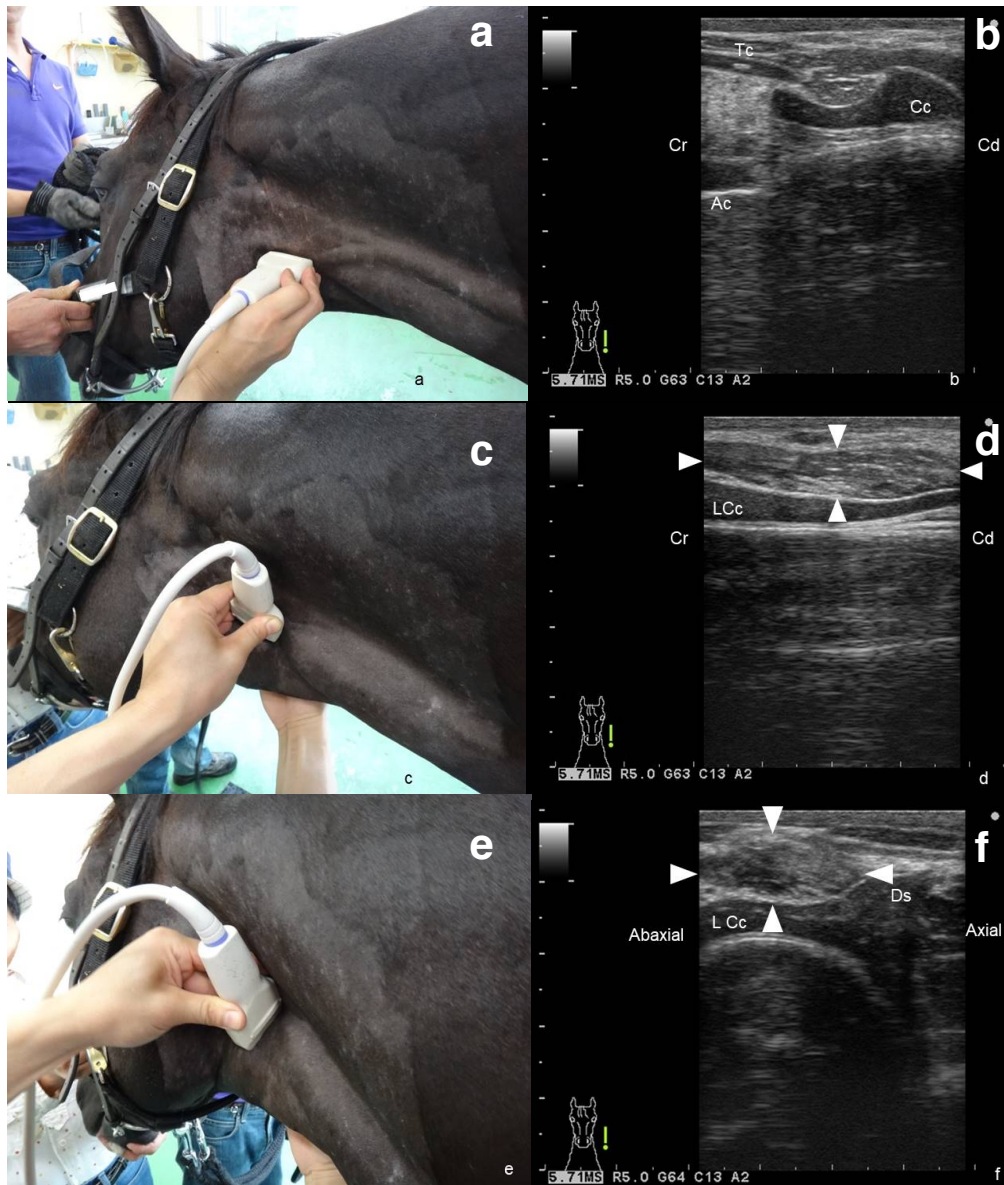


図 3-1. 経皮的喉頭超音波検査による背側披裂輪状筋描出法

経皮的喉頭超音波検査実施時の外貌写真(a, c, e)。a-b, c-d, e-f間において、それぞれの超音波プローブ接着時の超音波画像。a, b: 検査開始時、ランドマークとするベースラインイメージ。c, d: 矢状断面像。e, f: 横断面像。Ac(披裂軟骨)、Tc(甲状軟骨)、Cc(輪状軟骨)、LCc(左側輪状軟骨)、Cr(吻側)、Cd(尾側)、Ds(輪状軟骨矢状稜背側突起)、矢頭で囲われた部位: 背側披裂輪状筋。

3.2.4 左側背側披裂輪状筋の厚さの実測と喉頭形成術

喉頭形成術を実施した供試馬については、超音波画像上の計測値の正確性を確認するために LCAD の厚さを実測した。術中、LCAD を露出後、触診により LCAD の最も厚いと思われ、かつ喉頭正中に近い部位で術前超音波像における測定部位と近くなるような位置に対し、LCAD 背側から 24 ゲージ注射針を刺入し(図 3-2a)、輪状軟骨背側面に到達後に LCAD 背側表面を止血鉗子で保持してそのまま注射針を抜去した。抜去した注射針先端から鉗子保持部までの距離を測定し(図 3-2b)、LCAD の実際の厚さとした。

喉頭形成術は常法通り実施した[4, 44, 79]。具体的には、頸静脈から分岐する舌顔面静脈を 8~10cm 切皮後、静脈と肩甲舌骨筋を鈍性に剥離し、輪状軟骨尾側縁に達したところで周囲の脂肪組織などを剥離した。輪状軟骨尾側縁にインプラントを刺入可能な状態になった時点で左側 CAD の背側にある脂肪組織を鈍性分離し、触診により輪状軟骨背側突起や CAD の状態を確認して 24 ゲージ注射針を刺入して前述のように LCAD の厚さを実測した。注射針刺入部位は超音波で計測した部位と同様、LCAD の最も厚い部分で正中に近い部位で実施した。しかしながら、超音波計測部位と注射針刺入部位は完全な一致は不可能であり、術者の判断で行った。その後、輪状咽頭筋を吻側へ牽引、披裂軟骨筋突起へのアプローチを可能とした。術後の軟骨の癒合のため、輪状-甲状軟骨の靭帯結合部分を鈍性に剥離した。

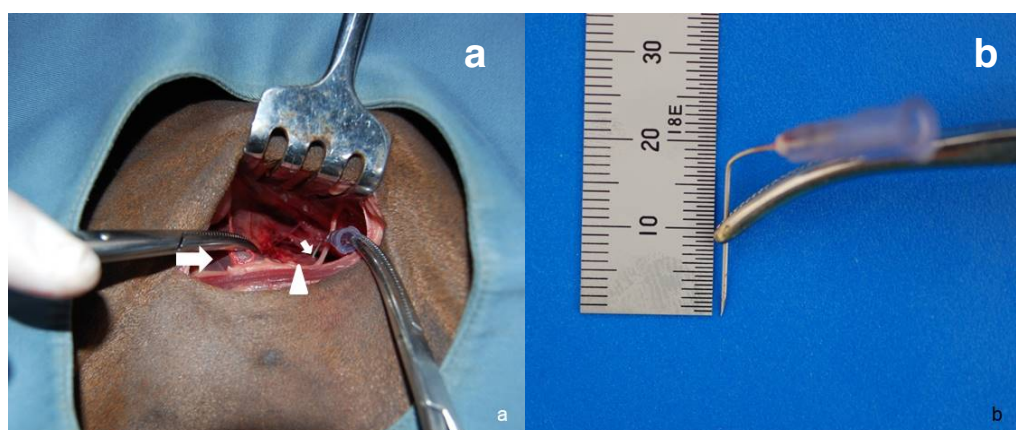


図 3-2.背側披裂輪状筋の厚さの実測

術中に左側背側披裂輪状筋(LCAD)に背側から 24 ゲージ注射針を刺入し(a)、輪状軟骨背側面に到達後に LCAD 背側表面を止血鉗子で保持してそのまま注射針を抜去した。抜去した注射針先端から鉗子保持部までの距離を測定し(b)、LCAD の実際の厚さとした。大矢印: 吻側へ牽引した左輪状咽頭筋、小矢印:LCAD へ刺入した 24 ゲージ注射針、矢頭:LCAD。

3.2.5 統計学的分析

すべてのデータは非正規分布であり (Kolmogorov-Smirnov, $P < 0.05$)、中央値 (四分位範囲) で表記し、統計学的処理にはノンパラメトリック検定法を用いた。コントロール群および RLN 群において、LCAD の厚さ、断面積、単位面積当たりのピクセル数および超音波輝度について正常外転を確認した RCAD と Wilcoxon signed-rank sum test を用いてそれぞれ比較した。経皮的喉頭超音波による CAD 描出法で得られた左右の CAD の厚さ、断面積、単位面積当たりのピクセル数、超音波輝度、および CAD の厚さならびに断面積における RCAD に対する LCAD の割合 (L:R ratio) について、コントロール群 (安静時喉頭内視鏡グレード 1 および 2) と RLN 群 (安静時喉頭内視鏡グレード 3 およびグレード 4) の間で Kruskal-Wallis test with Steel's post hoc test を用いて比較検討した。さらに、経皮的喉頭超音波による CAD 描出法で得られた LCAD の厚さと喉頭形成術実施中に測定した LCAD の厚さの実測値の相関関係について Pearson's correlation coefficient を用いて比較した。以上の統計学的分析については $P < 0.05$ で有意差ありとした。

なお、本章におけるコントロール群のサンプルサイズの正規性を検討するため、事前に本章の供試馬として加わっていない馬 84 頭 (本章の分類に該当するコントロール群 20 頭および RLN 群 64 頭) を用いてサンプルサイズ試験を実施した。これによりコントロール群のポピュレーションは 5~7 頭で $> 80\%$ となり、コントロール群の頭数を 30 頭での正規性を担保した。この事前試験については、パワー ($1-\beta$) を 1 と設定し、 $P < 0.05$ で有意差ありとした。 (G*Power)。本研究における統計処理ツールについて、サンプルサイズ設計以外は EZR を用い、 $P < 0.05$ で有意差ありとした。

3.3 成績

3.3.1 供試馬における安静時喉頭内視鏡グレードの分類

コントロール群のサンプルサイズの正規性を検討した事前結果をもとに安静時喉頭内視鏡検査により安静時喉頭内視鏡グレード1あるいは2と分類された30頭をコントロール群とした。これらの30頭は牡22頭および牝8頭であり、年齢1～5歳(中央値2.4歳)、体重401～537kg(平均469.4kg)であった。また、安静時喉頭内視鏡グレードはグレード1が20頭、グレード2aが9頭およびグレード2bが1頭であった(図3-3a)。

供試馬134頭が安静時喉頭内視鏡グレード3あるいは4と分類され、RLN群とした。このRLN群134頭は、牡112頭、牝21頭および騾馬1頭であり、年齢は1～6歳(中央値2.8歳)、体重は417～580kg(平均501.5kg)であった。RLN群の安静時喉頭内視鏡グレードは、グレード3aが2頭、グレード3bが47頭、グレード3cが31頭およびグレード4が54頭であった(図3-3b)。

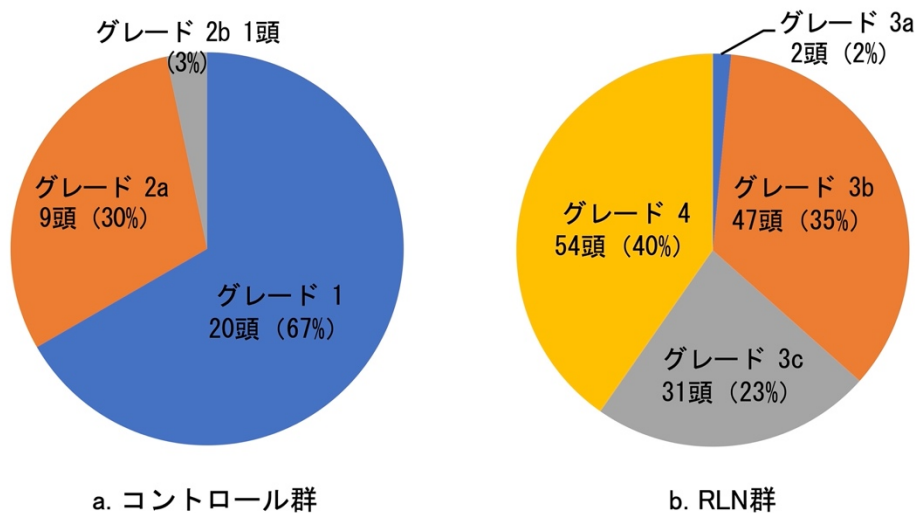


図 3-3. 供試馬の安静時喉頭内視鏡グレードの割合

コントロール群:稟告により異常呼吸音(喘鳴)を認めなかった供試馬30頭、RLN群:稟告により運動時の喘鳴を認め、安静時喉頭内視鏡グレード3と4を認めた供試馬134頭。

3.3.2 経皮的喉頭超音波検査による背側披裂輪状筋描出における背側披裂輪状筋の評価

すべての供試馬において第II章で考案した経皮的喉頭超音波によるCAD描出法による左右のCAD描出は可能であり、比較検討に十分値する画像を得られた。安静時喉頭内視鏡グレード1および4におけるそれぞれの典型的な経皮的喉頭超音波CAD描出像の矢状断面像および横断面像を図3-4に示した。また、表3-1に経皮的喉頭超音波CAD描出画像上の計測値を要約した。

コントロール群では、左右のCADの厚さは9mm前後、断面積は2.5 cm²前後および単位面積当たりのピクセルは6,300/cm²前後と左右差は認められず、L: R ratioも厚さおよび断面積ともに1.0前後であった。また、左右のCADの超音波輝度に有意な差を認めたが、左右とも20前後であった。これに対してRLN群では、LCADにおいてその厚さおよび断面積がRCADより有意に小さく(それぞれ $P<0.001$ および $P<0.001$)、L: R ratioも厚さおよび断面積ともに0.7前後とRCADより有意に低かった(それぞれ $P<0.001$ および $P<0.001$)。また、LCADの単位面積当たりのピクセルおよび超音波輝度がRCADより有意に大きかった(それぞれ $P<0.001$ および $P<0.001$)。

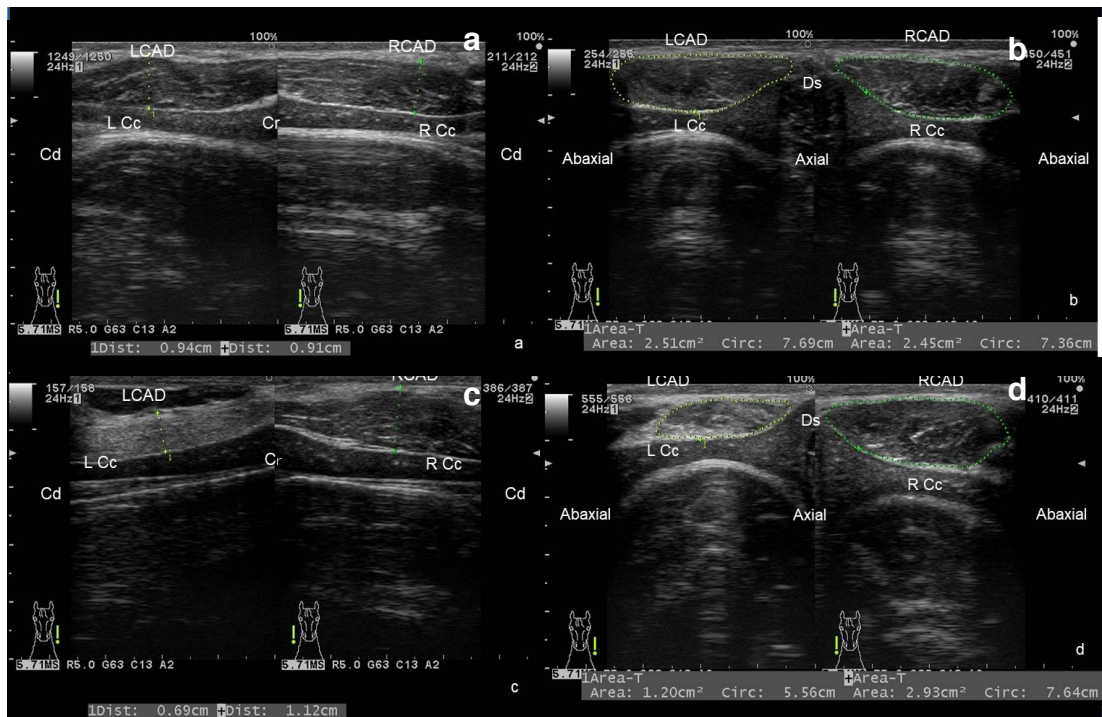


図 3-4. 安静時喉頭内視鏡グレード 1 および 4 における経皮的喉頭超音波による背側披裂輪状筋描出法の典型的な矢状断面像および横断面像

安静時喉頭内視鏡グレード 1 の供試馬 (コントロール群) における左右背側披裂輪状筋の矢状断面像 (a) と横断面像 (b)、ならびに安静時喉頭内視鏡グレード 4 の供試馬 (RLN 群) における左右背側披裂輪状筋の矢状断面像 (c) および横断面像 (d)。矢状断面像 a と c においては最も厚い部位で厚さを測定し (点線領域内)、横断面像 b と d においては輪状軟骨矢状陵背側突起 (Ds) を含む位置での面積を測定した (点線領域)。コントロール群供試馬の a と b においては LCAD と RCAD の厚さおよび面積における違いはほとんどないが、RLN 群供試馬の b と d においては LCAD の方が RCAD よりも薄く、小さく、輝度が高い (白い) ことが明白である。LCAD (左側背側披裂輪状筋)、RCAD (右側背側披裂輪状筋)、L Cc (左側輪状軟骨)、R Cc (右側輪状軟骨)、Cr (吻側)、Cd (尾側)、Ds (輪状軟骨矢状陵背側突起)。

表 3-1. 経皮的喉頭超音波による背側披裂輪状筋描出法で描出した左背側披裂輪状筋 (LCAD) および右背側披裂輪状筋 (RCAD) の超音波画像上の計測値

	コントロール群		RLN 群	
	LCAD	RCAD	LCAD	RCAD
厚さ (mm)	8.7 (8.2 - 9.8)	9.1 (7.8 - 9.7)	7.0 ^{aa} (6.2 - 7.8)	10.3 (9.2-11.2)
面積 (cm ²)	2.4 (2.2 - 2.6)	2.5 (2.2 - 2.7)	1.8 ^{aa} (1.5 - 2.0)	2.7 (2.4 - 3.1)
ピクセル数 (pixel/cm ²)	6,293 (5,955 - 6,467)	6,331 (6,187 - 6,556)	6,284 ^a (6,054 - 6,508)	6,190 (5,980 - 6,308)
超音波輝度	25.5 ^a (19.8 - 28.9)	23.2 (18.7 - 26.2)	34.6 ^{aa} (30.3 - 38.0)	25.95 (22.8 - 28.7)
L: R ratio				
厚さ	1.01 (0.93 - 1.06)		0.69 (0.57 - 0.83) ^{bb}	
面積	1.00 (0.95 - 1.02)		0.66 (0.51 - 0.80) ^{bb}	

数値は中央値(四分位範囲)を示す。コントロール群:安静時喉頭内視鏡グレード1とグレード2に分類され稟告により異常呼吸音(喘鳴)を認めなかった供試馬30頭。RLN群:安静時喉頭内視鏡グレード3とグレード4に分類され喉頭片麻痺と診断された供試馬134頭。厚さ:矢状断面像でのCADの厚さ、面積:横断面像でのCADの断面積、ピクセル数:CADの単位面積当たりのピクセル数、超音波輝度:CADの超音波輝度、L: R ratio:RCADに対するLCADの割合。LCADとRCADの間で有意差:^a $P < 0.05$, ^{aa} $P < 0.01$ 。コントロール群との有意差:^b $P < 0.05$, ^{bb} $P < 0.01$ 。

3.3.3 安静時喉頭内視鏡グレードと経皮的喉頭超音波背側披裂輪状筋描出像の関連

表 3-2 に安静時喉頭内視鏡グレードと経皮的喉頭超音波による CAD 描出法で描出した LCAD と RCAD の超音波画像上の計測値について要約した。また、図 3-5 に安静時喉頭内視鏡グレード別の CAD の厚さおよび断面積における L:R ratio を示した。

RLN 群では、コントロール群と比較して、安静時喉頭内視鏡グレード 3b、グレード 3c およびグレード 4 を示した供試馬において LCAD の厚さが有意に薄く(順に $P < 0.001$, $P < 0.001$ および $P < 0.001$)、断面積が有意に小さかった(順に $P < 0.001$, $P < 0.001$ および $P < 0.001$)、LCAD の超音波輝度が有意に高い値を示した(順に $P < 0.001$, $P < 0.001$ および $P < 0.001$)。

RLN 群の RCAD の厚さはグレード 3b およびグレード 4 を示した供試馬においてコントロール群と比較して有意に厚く($P=0.004$ および $P < 0.001$)、RCAD の断面積はグレード 3b を示した供試馬においてコントロール群と比較して有意に大きかった($P=0.034$)。また、RCAD の超音波輝度はグレード 4 を示した供試馬においてコントロール群と比較して有意に高い値であった($P=0.042$)。さらに、RCAD のピクセル数がグレード 3b およびグレード 4 を示した供試馬において有意に低い値であった($P=0.035$)。

矢状断面像における CAD の厚さの L:R ratio は、グレード 3a で 0.75 (0.71 - 0.79)、グレード 3b で 0.72 (0.67 - 0.76)、グレード 3c で 0.72 (0.63 - 0.83) およびグレード 4 で 0.64 (0.57 - 0.71) であり、コントロール群の 1.01 (0.93 - 1.06) と比較してグレード 3b、グレード 3c およびグレード 4 で有意に低い値であった(順に $P < 0.001$, $P < 0.001$ および $P < 0.001$, 図 3-5a)。

CAD の断面積における L:R ratio は、グレード 3a で 0.69 (0.64 - 0.75) グレード 3b で 0.71 (0.63 - 0.79)、グレード 3c で 0.68 (0.59 - 0.80) およびグレード 4 で 0.61 (0.51 - 0.71) であり、コントロール群の 1.00 (0.95 - 1.02) と比較してグレード 3b、グレード 3c およびグレード 4 で有意に低い値であった(順に $P < 0.001$, $P < 0.001$ および $P < 0.001$, 図 3-5b)。

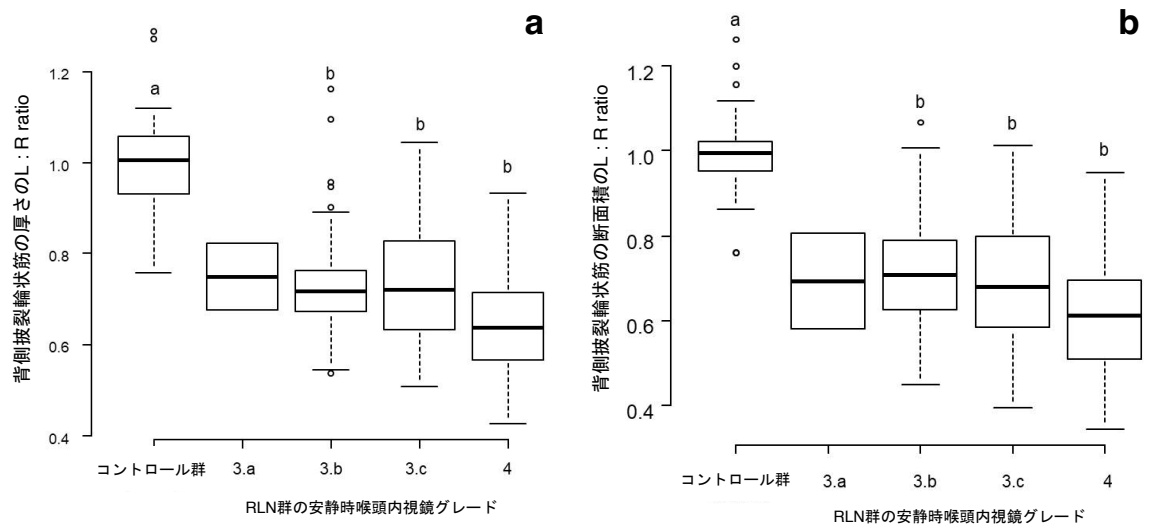


図 3-5. 安静時喉頭内視鏡グレード別の経皮的喉頭超音波による背側披裂輪状筋描出法で描出した右背側披裂輪状筋 (RCAD) に対する左背側披裂輪状筋 (LCAD) における厚さおよび断面積の比率

背側披裂輪状筋の厚さ(a)および面積(b)ともに RCAD に対する LCAD の割合 (L:R ratio) は、RLN 群の安静時喉頭内視鏡グレード 3b、グレード 3c およびグレード 4 を示した供試馬においてコントロール群 (安静時喉頭内視鏡グレード 1 およびグレード 2) と比較して有意に低かった。a-b 間で有意差あり ($P < 0.01$)。

表 3-2. 安静時喉頭内視鏡グレードと経皮的喉頭超音波による背側披裂輪状筋描出法で描出した左および右背側披裂輪状筋 (LCAD および RCAD) の超音波画像上の計測値との関連

		コントロール群	RLN 群			
		グレード 1-2 n= 30	グレード 3a n= 2	グレード 3b n= 47	グレード 3c n= 31	グレード 4 n= 54
厚さ (mm)	LCAD	8.7 (8.2 - 9.8)	8.3 (7.7 - 8.9)	7.3 (6.8 - 8.1) ^{aa}	7.3 (6.5 - 7.8) ^{aa}	6.4 (5.8 - 7.5) ^{aa}
	RCAD	9.1 (7.8 - 9.7)	11.0 (10.8 - 11.3)	10.1 (9.3 - 11.3) ^{aa}	10.1 (8.9 - 10.8)	10.5 (9.7 - 11.2) ^{aa}
面積 (cm ²)	LCAD	2.4 (2.2 - 2.6)	2.2 (2.1 - 2.4)	1.8 (1.7 - 2.1) ^{aa}	1.9 (1.6 - 2.1) ^{aa}	1.59 (1.4 - 1.9) ^{aa}
	RCAD	2.5 (2.2 - 2.7)	3.2 (3.2 - 3.3)	2.8 (2.4 - 3.1) ^a	2.6 (2.4 - 2.9)	2.7 (2.4 - 3.0)
ピクセル数 (pixel/cm ²)	LCAD	6,292 (5,955 - 6,467)	6,392 (6,333 - 6,451)	6,294 (6,058 - 6,573)	6,222 (5,823 - 6,422)	6,284 (6,148 - 6,440)
	RCAD	6,331 (6,187 - 6,556)	6,176 (6,170 - 6,182)	6,174 (5,966 - 6,343) ^a	6,219 (5,993 - 6,314)	6,187 (5,972 - 6,291) ^a
超音波輝度	LCAD	25.5 (19.2 - 29.0)	30.1 (26.8 - 33.3)	33.1 (29.1 - 36.6) ^{aa}	33.2 (30.0 - 36.8) ^{aa}	36.9 (32.7 - 40.2) ^{aa}
	RCAD	23.2 (18.7 - 26.2)	25.3 (24.2 - 26.4)	26.0 (22.4 - 28.8)	25.3 (22.7 - 26.9)	25.7 (23.0 - 29.2) ^a

数値は中央値(四分位範囲)を示す。コントロール群:安静時喉頭内視鏡グレード1とグレード2に分類され稟告により異常呼吸音(喘鳴)を認めなかった供試馬30頭。RLN群:安静時喉頭内視鏡グレード3とグレード4に分類され喉頭片麻痺と診断された供試馬134頭であり、さらにグレード3a、グレード3b、グレード3cおよびグレード4の供試馬に分けて示した。厚さ:矢状断面像でのCADの厚さ、面積:横断面像でのCADの段面積、ピクセル数:CADの単位面積当たりのピクセル数、超音波輝度:CADの超音波輝度。コントロール群との有意差:^a $P < 0.05$, ^{aa} $P < 0.01$.

3.3.4 左背側披裂輪状筋の厚さの実測値と経皮的喉頭超音波背側披裂輪状筋描出法における計測値の比較

喉頭形成術中に測定した RLN 群の LCAD の実測値は 8.0(7.0~9.5) cm であり、経皮的喉頭超音波 CAD 描出法で得られた LCAD の厚さと有意な相関関係を認めた ($R = 0.64$, $P < 0.001$; 図 3-6)。

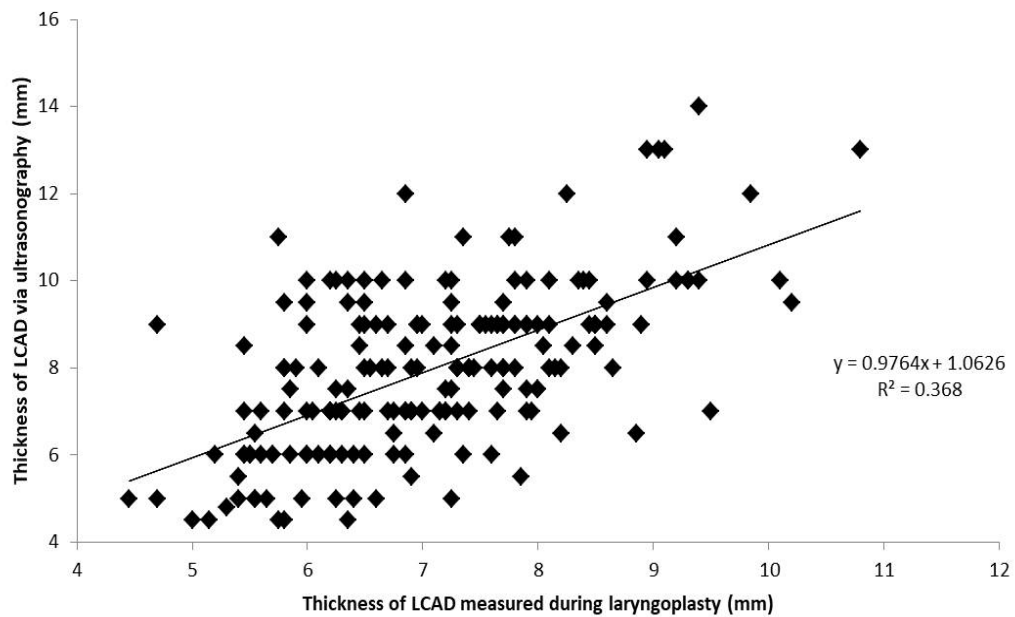


図 3-6. 左背側披裂輪状筋の厚さの実測値と経皮的喉頭超音波による背側披裂輪状筋描出法計測値の比較

X 軸に喉頭形成術中に測定した左背側披裂輪状筋 (LCAD) の厚さの実測値、Y 軸に経皮的超音波で得た LCAD の厚さを示す。

3.4 考察

本章においても、第Ⅱ章で考案した経皮的喉頭超音波による CAD 描出法によって馬サラブレッド種の CAD の描出が安全に極短時間で可能であり、CAD の厚さ、断面積、単位面積当たりのピクセル数および超音波輝度について正常馬と RLN 症例馬との間に有意な差を認めた。しかしながら、サラブレッド種以外の馬では検討しておらず、ドラフトホースの喉頭はサラブレッド種よりも吻側に位置しているという報告もあり[13]、今回考案した経皮的喉頭超音波による CAD 描出法がすべての馬種に実施可能かは判断できない。

本章で検討した経皮的喉頭超音波による CAD 描出法における CAD 超音波画像評価では、安静時喉頭内視鏡グレード3 およびグレード4を認めた RLN 群において正常外転が可能な RCAD に対して LCAD が有意に萎縮していることが示された。この所見は、既報[54]における経食道プローブを用いた CAD 超音波画像評価の所見と同様の結果であった。具体的には、この既報[54]では安静時喉頭内視鏡グレード3 の馬において CAD の厚さの L:R ratio は <0.8 であったと報告しており、本章では安静時喉頭内視鏡グレード3 とグレード4 の RLN 群において L:R ratio は CAD の厚さで 0.69 および断面積で 0.66 であった。さらに、本章において喉頭形成術中に実測した LCAD の厚さと経皮的喉頭超音波による CAD 描出法で計測した LCAD の厚さには有意な相関を認め、経皮的喉頭超音波による CAD 描出法によって CAD のサイズを適正に計測できると考えられた。一方で、コントロール群では左右の CAD の厚さと面積に有意な差はなかった。これらの結果から、今回考案した経皮的喉頭超音波による CAD 描出法は馬サラブレッド種の RLN 診断ツールの一つとして有用であると結論された。

本章では、安静時喉頭内視鏡グレードと経皮的喉頭超音波による CAD 描出法における CAD 超音波画像評価との有意な関係性について言及することが可能であった。本章の第一目的は、CAD の L:R ratio と安静時喉頭内視鏡グレードとの関係性を明らかにすることであり、グレード3aの例数が少なかったものの、安静時喉頭内視鏡グレードが高くなると経皮的喉頭超音波による CAD 描出法における L:R ratio が小さくなる負の相関関係を認めた。つまり、LCAD の萎縮がより進んだ馬症例では安静時喉頭内視鏡グレードが高い(喉頭片麻痺が酷い)ということ CAD 超音波画像評価によって明確に示すことができた。馬の RLN が左側に多く発症することは周知の事実であり、馬の RLN 症例での LCAD の萎縮については既報[54] があり、披裂軟骨を牽引して声門裂の拡張を司る CAD が馬 RLN 症例で萎縮することは理解しやすいと思われる。一方、安静時喉頭内視鏡グレード3 およびグレード4の供試馬においても LCAD の

萎縮が軽度であった症例が散見された。馬における左喉頭神経の実験的切除に関する一連の研究では、神経障害から 6 か月後に実施した解剖学的検査において顕著な萎縮と退色性変化を認めたと報告されている[26-28]。本章で認めた LCAD の萎縮が軽度であった供試馬は、神経障害を発症してから安静時喉頭内視鏡検査あるいは経皮的喉頭超音波 CAD 描出までの経過時間が影響していると考えられた。

本章では、LCAD で認めた安静時喉頭内視鏡グレードが高いと萎縮が進む負の相関関係に対して、RCAD では安静時喉頭内視鏡グレードが高くなると経皮的喉頭超音波による CAD 描出像における RCAD の厚さが大きくなる正の相関関係を確認した。具体的には、安静時喉頭内視鏡グレード 3b およびグレード 4 の馬症例で RCAD が有意に肥大していた。馬 RLN 症例において、反対側の RCAD が肥大することはこれまで報告されていない新しい知見であり、大変興味深い。LCAD の萎縮が顕著な症例ほど喉頭の麻痺が酷く、左披裂軟骨小角突起はより軸側に変位する。この喉頭左側の軸側変位による声門裂の狭窄に対して、声門裂の開大を確保するべく代償性に喉頭右側の披裂軟骨小角突起をより強く開くために RCAD は強い収縮を繰り返すことによって肥大したと考察された。

人医療における研究において、骨格筋の超音波検査画像に関して、萎縮の強い高齢男女の大腿四頭筋と大腿直筋は高輝度に描出されると報告されている [8, 75, 86]。超音波画像における輝度は、グレースケール解析により指定領域において 0 から 256 の段階の数値で表示されている。超音波画像に表記された輝度の数値に関しては輝度が高いほど数値が高く、より強い白色で表示されている部位ほど輝度の数値が高くなる。よって、筋肉の超音波画像において、輝度に関しヒストグラム機能を用いたグレースケール表示はその筋肉の質を評価するうえで有用である。馬の RLN 研究において、CAL は CAD に比べてより早くより強く神経障害の影響を受けるとされている [29, 34, 44, 46]。さらに、CAL の超音波輝度とトレッドミル運動時喉頭内視鏡所見は有意な相関関係にあり、馬の RLN 診断ツールの一つとなると言及されている[42]。本章では、安静時喉頭内視鏡グレード 3 およびグレード 4 の供試馬の LCAD の超音波輝度と単位面積当たりのピクセル数は RCAD より有意に高い数値を示した。さらに、LCAD の超音波輝度は、安静時喉頭内視鏡グレード 3b、グレード 3c およびグレード 4 の供試馬においてコントロール群よりも有意に高い値であった。一方、RCAD の超音波輝度も安静時喉頭内視鏡グレード 4 でコントロール群よりも有意に高い値を示したが、RCAD は単位面積当たりのピクセル数が安静時喉頭内視鏡グレード 3b とグレード 4 の供試馬においてコントロール群よりも有意に低かった。CAD の単位面積当たりのピクセル数は、コントロール群と RLN 群ともに 6,200~6,300

pixel/cm² 前後と絶対値が大きく、群間の差も 100 pixel/cm² 前後と小さかったことから、RLN 評価に適さない可能性が示唆された。前述の代償性肥大が超音波輝度に与える影響については言及された報告はなく、RLN 群における RCAD のピクセル数が高かったことについての関連は不明であるが、コントロール群では超音波検査時に毛刈りを実施しなかったことで皮膚や被毛の汚れが輝度に影響を与えていたのかもしれない。また、コントロール群において LCAD の超音波輝度が RCAD よりも有意に高かった。この所見の原因は未知で言及できない部分もあるが、RLN 発症から超音波輝度に影響を与えるまでは少なくとも 4 週間以上必要であるとする既報 [12] や収縮力を失った筋肉が萎縮するまでのタイムラグを考慮すると、潜在的な RLN 病変や早期の LCAD 病変を捕捉していた可能性もあると考える。馬の RLN における超音波描出を用いた筋肉の質の評価については、単位面積当たりのピクセル数よりも超音波輝度の方がより適切な比較項目であると考えられた。しかしながら、本章における経皮的喉頭超音波による CAD 描出法を用いた超音波輝度や単位面積当たりのピクセル数の評価においてはサンプル数を増やした追加研究や他の部位の筋肉を用いた新たな研究による検討が必要かもしれない。

本章では馬の RLN 診断に安静時喉頭内視鏡検査を採用し、馬の上部気道疾患における診断ツールとしては Golden Standard とされる運動時喉頭内視鏡検査を実施していない。Elliott ら[35]は、完全な正常と診断される安静時喉頭内視鏡グレード 1 と評価された馬の 1% で運動時喉頭内視鏡検査で左披裂軟骨小角突起の虚脱を認め、安静時喉頭内視鏡グレード 3a と評価された馬の 16% に運動時喉頭内視鏡検査で左披裂軟骨小角突起に十分な外転を認めたと報告している。本章における CAD 超音波画像評価の質や量と安静時喉頭内視鏡グレードとの矛盾は、安静時喉頭内視鏡グレードと運動時喉頭内視鏡グレードとの違いを表している可能性があるのかもしれない。今後、本章における経皮的喉頭超音波による CAD 描出法で得られた CAD 超音波画像評価と運動時喉頭内視鏡グレードとの関係性を検討する必要があると思われる。現在の日本国内における運動時喉頭内視鏡の普及率を考慮するとこの検討は不可能ではないと考えられる。本章における CAD の厚さ計測は、わずかながら左右で計測ポイントの違いが生じていると考えられる。CAD の断面積に関しては輪状軟骨背側突起という描出しやすいランドマークがあるが、CAD の厚さを計測する矢状断面像においてはそのようなランドマークがなく、披裂軟骨筋突起と輪状軟骨尾側縁を繋ぐ正中付近で最も厚い部分で計測した。また、経皮的喉頭超音波 CAD 描出像で計測した LCAD の厚さの値と喉頭形成術中に計測した実

測値の間には有意な相関が認められたものの、相関係数は0.6で強い相関とは言えなかった。これらも本研究におけるリミテーションであると考えられる。

馬のRLN診断におけるCAD超音波画像評価の重要性や有用性はすでに報告されている[12, 54]。既報[11]によると、CALとCADの病理組織学的検索による筋変性とグレースケールを用いた超音波輝度には相関があると報告されている。今回考案した経皮的喉頭超音波によるCAD描出法は、これまで体表からの超音波画像描出は困難であるとされてきたCADを非侵襲的に簡便に総体的に安全に評価できる有用な馬のRLN診断ツールと考えられる。さらに、この経皮的喉頭超音波によるCAD描出法はリニアアレイプローブ1本あれば、馬二次診療施設のみならず、牧場の厩舎や馬房内でも実施可能であり、馬臨床分野で幅広い普及が可能であると考えられる。また、この経皮的喉頭超音波によるCAD描出法における馬のCAD超音波画像評価は当歳馬や1歳馬など調教前の馬でも可能であることや、神経原性の筋肉の変化として、超音波輝度の上昇と筋肉の初期の萎縮を捕捉できるのであれば、今後RLNのより早期病変の発見が可能であるかもしれない。RLNの早期診断は、完全な麻痺や重度の筋変性に至る前のRLN馬を発見できる可能性を含んでおり、RLNに対する外科手術の一つである神経移植などの再生治療の選択肢を増やすことにもつながる。同時に、将来的な研究にはなるが、喉頭構成軟骨を描出して評価することで、喉頭形成術後のモニタリングとして得られる情報もあると考える。喉頭形成術後の内視鏡検査に加えるRLN診断のツールとして、早期診断、確定診断、術後検査など幅広い応用が可能な検査方法であると考えられた。

3.5 小 括

本章では、サラブレッド種育成馬または競走馬において第Ⅱ章で考案した経皮的喉頭超音波 CAD 描出法を用いて超音波画像評価を実施し、RLN のない馬と RLN の症状を示す馬について左右 CAD の超音波像を比較検討した。

NOSAI みなみ家畜高度医療センターにおいて上部気道検査を実施したサラブレッド種育成馬または競走馬 164 頭(牡 134 頭、牝 29 頭、騾馬 1 頭、年齢 1~6 歳、体重 401~580kg)を用いた。すべての供試馬において、無鎮静および鼻捻保定下で安静時喉頭内視鏡検査を実施し、メドミジン 5~7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 静脈内投与の鎮静下で経皮的喉頭超音波による CAD 描出法を実施した。安静時喉頭内視鏡検査では、既報[26, 29]に従い右側披裂軟骨小角突起最大外転時の左披裂軟骨小角突起の外転位置で安静時喉頭内視鏡グレードを分類した。経皮的喉頭超音波による CAD 描出法は左右の喉頭において 2 回実施し、軸族縦断像による左右の CAD の厚さおよび横断像による断面積、単位面積当たりのピクセル数および超音波輝度の計測などの超音波画像評価を実施した。

供試馬の 30 頭は RLN のない馬(コントロール群)であり、残り 134 頭が RLN の症状を示す馬(RLN 群)であった。RLN 群ではすべての供試馬に喉頭形成術を実施し、術中に LCAD の厚さを実測した。安静時喉頭内視鏡グレードはコントロール群でグレード 1 が 20 頭、グレード 2a が 9 頭、グレード 2b が 1 頭、RLN 群ではグレード 3a が 2 頭、グレード 3b が 47 頭、グレード 3c が 31 頭、グレード 4 が 54 頭であった。超音波画像評価では、コントロール群では、左右の CAD の厚さは 9mm 前後、断面積は 2.5 cm^2 前後と左右差は認められず、L:R ratio は 1.0 前後であった。RLN 群では CAD の厚さと断面積は LCAD で 7mm 前後と 1.8 cm^2 、RCAD で 10mm 前後と 2.7 cm^2 と LCAD に有意な減少を認め、L: R ratio は 0.7 前後であった。また、既報に一致して安静時喉頭内視鏡グレードが高くなるほど LCAD はより強く萎縮していることが示された。一方で、安静時喉頭内視鏡グレードが高い供試馬で RCAD の代償性肥大の可能性というこれまでに報告のない新しい知見を得た。

今回考案した経皮的喉頭超音波による CAD 描出法は馬サラブレッド種の RLN 診断ツールの一つとして有用であると結論された。

第IV章

経皮的喉頭超音波検査法の臨床応用

4.1 小 緒

第III章では、第II章で考案した馬の経皮的超音波 CAD 描出法が臨床例においても安全かつごく短時間で実施可能であり、馬の RLN 診断ツールの一つとして有用であることを示した。とくに、馬 RLN 症例における経皮的超音波 CAD 描出法と安静時喉頭内視鏡検査との相関については新しい知見であり、馬の上部気道疾患に対して臨床現場において新たなアプローチが可能であることを示した。

帆保[49]は、わが国の呼吸異常を呈したサラブレッド種競走馬 1,008 頭における上部気道の内視鏡検査所見を検討し、異常呼吸音の臨床症状を呈した馬に喉頭片麻痺と軟口蓋背方変位を高率に認めたと報告している(喉頭片麻痺 26.7%, 軟口蓋背方変位 37.6%)。また、目加田ら[62]も運動負荷時に喘鳴音が聴取されたばんえい競走馬 63 頭における上部気道の内視鏡検査所見を検討し、喉頭片麻痺を 88.9%および軟口蓋背方変位を 9.6%の馬に認めたと報告している。前述の帆保[49]は、サラブレッド種競走馬の軟口蓋背方変位と喉頭蓋の形態異常との間に有意な相関が認められたことから、軟口蓋背方変位の原因には先天的な喉頭蓋の形態異常や喉頭蓋あるいは軟口蓋の炎症との因果関係があることを示唆した。馬の上部気道疾患には、RLN のみならず、喉頭構成軟骨の異常や奇形を原因とする疾患もあり[42, 55, 81]、このような内部構造異常は喉頭の外形や運動状態を観察する喉頭内視鏡検査のみでは診断できない。一方、馬の披裂軟骨炎については内部構造の情報を得られる超音波診断の有用性が示され、披裂軟骨炎例では正常馬と比較して AC に有意に異常な形状を認めると報告されている[39]。したがって、安静時喉頭内視鏡検査と経皮的超音波 CAD 描出法により喉頭の外形や運動状態と内部構造の情報を同時に得ることで、馬の上部気道疾患の診断精度をさらに高めることができる」と期待される。

本章では、上部気道疾患を有するサラブレッド種の臨床例において、安静時喉頭内視鏡検査と経皮的超音波 CAD 描出法を併用して実施し、同手法の有用性を検討した。

4.2 材料および方法

4.2.1 供試馬

2014～2021年の間にNOSAIみなみ家畜高度医療センターへ喘鳴や運動不耐性を主訴に来院したサラブレッド、計216頭を調査に供した。これらの供試馬に対して、安静時喉頭内視鏡検査とともに本研究で開発した経皮的超音波によるCAD描出法による超音波検査を実施した。

4.2.2 安静時喉頭内視鏡検査

すべての供試馬において、第Ⅲ章と同様の方法において喉頭内視鏡検査を実施した。得られた喉頭内視鏡所見について、喉頭片麻痺を認めた場合にはサブグレードを含む7ポイントグレーディングシステムにおいて評価した(第Ⅰ章の表1-1参照)。具体的には、グレード1は1ポイント、グレード2aは2ポイント、グレード2bは3ポイント、グレード3aは4ポイント、グレード3bは5ポイント、グレード3cは6ポイントおよびグレード4は7ポイントとした。

4.2.3 経皮的喉頭超音波検査

安静時喉頭内視鏡検査を実施後、すべての供試馬において第Ⅲ章と同様の方法において経皮的喉頭超音波検査を実施した。メドミジン 5～7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ドルベネ注[®]; 共立製薬, 東京) 静脈内投与による柵場内立位鎮静下において供試馬の左右の喉頭周囲を剪毛し、経皮的喉頭超音波検査を実施した。超音波検査には7.5MHzリニアアレイプローブ(日立アロカメディカル, 東京)と汎用超音波検査機(Prosound $\alpha 6$; 日立アロカメディカル, 東京)を用い、喉頭周囲剪毛後に70%イソプロパノールを塗布して経皮的喉頭超音波検査を実施した。経皮的喉頭超音波は、第Ⅱ章および第Ⅲ章における経皮的喉頭超音波によるCAD描出法に準じて実施しCAD、CCの背外側アプローチによる矢状断面像、横断面像を記録した(第Ⅲ章の図3-1参照)。

4.3 成績

4.3.1 安静時喉頭内視鏡検査所見

供試馬の年齢は 2.8 ± 1.0 歳(平均値 \pm 標準偏差)、体重は 499.6 ± 36.3 kg であり、牡馬 174 頭、牝馬 41 頭および騾馬 1 頭であった。安静時喉頭内視鏡検査では、すべての供試馬に左右いずれかの AC 小角突起の外転不全を認め、212 頭に左側 AC 小角突起の外転不全、4 頭(牡馬 3 頭、牝馬 1 頭)に右側 AC 小角突起の外転不全を認め(図 4-1)、喉頭片麻痺と診断された。安静時喉頭内視鏡グレードは、左側 AC 小角突起の外転不全を認めた供試馬 212 頭ではグレード 3a が 9 頭、グレード 3b が 65 頭、グレード 3c が 62 頭およびグレード 4 が 76 頭であり、右側 AC 小角突起の外転不全を認めた供試馬 4 頭についてはすべてグレード 4 であった。



図 4-1. 右側披裂軟骨小角突起の外転不全および口蓋咽頭弓吻側変位の安静時喉頭内視鏡所見

サラブレッド種(牝馬, 2 歳)に右側披裂軟骨(AC)小角突起の外転不全を認めると同時に AC 小角突起背側の口蓋咽頭弓の吻側への変位を認めた。右側 AC 小角突起の外転不全は左側と同様に安静時喉頭内視鏡グレードを記録し、グレード 4 と評価された。本供試馬では、同時に口蓋咽頭弓の吻側変位(Rosatral deviation of palato pharyngeal arch, RDPA)を認めた。

4.3.2 経皮的喉頭超音波検査所見

経皮的喉頭超音波検査では、供試馬 216 頭のうち 198 頭(91.7%)に第Ⅲ章と同様に LCAD の萎縮および変性像を認め左側 RLN と診断し、2 頭(0.91%)に RCAD の萎縮および変性像を認め右側 RLN と診断した。残りの供試馬 16 頭(7.4%)には、何らかの喉頭構成軟骨の異常を認めた(表 4-1)。最も多かった喉頭構成軟骨の異常は CC 矢状陵背側突起(Ds)の欠損であり、供試馬 8 頭(3.7%)に認めた。その他、披裂軟骨炎(Ary Ch)を 5 頭(2.3%)、第四鰓弓欠損症(4-BAD)を 2 頭(0.9%)および AC 筋突起(MPA)形成不全を 1 頭(0.4%)に認めた。

表 4-1. 経皮的喉頭超音波検査において喉頭構成軟骨に異常所見を認めた供試馬 16 頭

供試馬	年齢	性別	異常所見	治療	出走
No. 1	1	牝	4-BAD	未実施	可
No. 2	2	不明	Ds	LP	不明
No. 3	3	牡	Ds	LP	不可
No. 4	2	牡	MPA 形成不全	LP 中止	可
No. 5	1	牡	4-BAD	未実施	可
No. 6	2	牝	Ary Ch	披裂軟骨切除術	可
No. 7	2	牡	Ds	LP	可
No. 8	5	牡	Ds	LP	可
No. 9	2	牡	Ds	LP	可
No. 10	2	牡	Ds	LP	可
No. 11	2	牡	Ary Ch	LP 後の披裂軟骨切除術	可
No. 12	3	牝	Ds	LP	経過観察中
No. 13	2	牡	Ds	LP	経過観察中
No. 14	3	牡	Ary Ch	LP 後の披裂軟骨切除術	経過観察中
No. 15	2	牝	Ary Ch	抗生剤, 消炎剤	経過観察中
No. 16	2	牝	Ary Ch	抗生剤, 消炎剤	経過観察中

供試馬の年齢は NOSAI みなみ家畜高度医療センターでの診察時。供試馬 No. 2 については馬名も不明であり、情報収集不可能であった。競馬レースへの出走の有無に関しては 2021 年 11 月 11 日現在。Ary Ch: 披裂軟骨炎, Ds: 輪状軟骨矢状陵背側突起の欠損, 4-BAD: 第四鰓弓欠損症, MPA 形成不全: 披裂軟骨筋突起形成不全, LP: 喉頭形成術。

4.3.2.1 反回喉頭神経障害の経皮的喉頭超音波検査所見

前述のように、すべての供試馬に安静時喉頭内視鏡検査において喉頭片麻痺を認め(左側 212 頭, 右側 4 頭)、このうち経皮的喉頭超音波検査において喉頭構成軟骨の位置関係や形状に異常を認めなかった 198 頭(91.7%)に LCAD の萎縮および変性像を認めたことから左側 RLN、2 頭(0.91%)に RCAD の萎縮および変性像を認めたことから右側 RLN と診断した。左側 RLN 症例における CAD の厚さと面積における L:R ratio の平均値±標準偏差は、 0.70 ± 0.13 と 0.70 ± 0.15 であり、安静時喉頭内視鏡グレード別にはグレード 3a(9 頭)で 0.74 ± 0.13 と 0.74 ± 0.10 、グレード 3b(65 頭)で 0.72 ± 0.13 と 0.73 ± 0.14 、グレード 3c(62 頭)で 0.73 ± 0.14 と 0.70 ± 0.1 およびグレード 4(76 頭)で 0.64 ± 0.15 と 0.67 ± 0.13 であった。右側 RLN 症例 2 頭の安静時喉頭内視鏡グレードはグレード 4 であり、CAD の厚さと面積の L:R ratio はそれぞれ 0.96 と 1.41 および 0.90 と 1.45 であった。

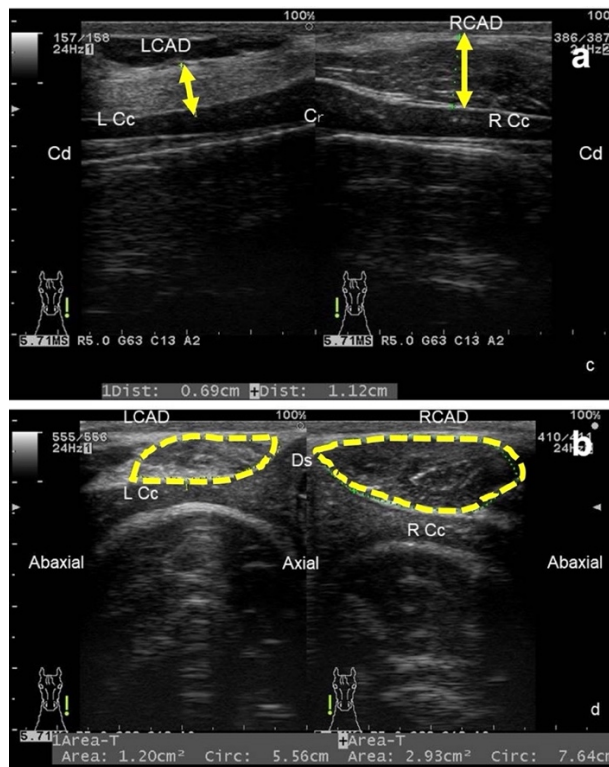


図 4-2. 左側反回喉頭神経障害(RLN)の経皮的喉頭超音波像

左側 RLN 症例(安静時喉頭内視鏡グレード 4)における左右背側披裂輪状筋の矢状断面像(a)および横断面像(b)。矢状断面像 a では最も厚い部位で厚さを測定し(黄色点線領域内)、横断面像 b では輪状軟骨矢状陵背側突起(Ds)を含む位置で面積を測定した(黄色点線領域)。LCAD の方が RCAD よりも薄く、小さく、輝度が高い。LCAD(左側背側披裂輪状筋)、RCAD(右側背側披裂輪状筋)、LCc(左側輪状軟骨)、RCc(右側輪状軟骨)、Cr(吻側)、Cd(尾側)、Ds(輪状軟骨矢状陵背側突起)。

4.3.2.2 第四鰓弓欠損症の経皮的喉頭超音波検査所見

事前の安静時喉頭内視鏡検査において右側 AC 小角突起の外転不全を認めた供試馬 4 頭では、経皮的喉頭超音波による CAD 描出法のベースラインイメージである喉頭外側縦断像において CC、AC および TC の位置関係を描出し、異常の有無を確認した。経皮的喉頭超音波画像において CC-TC 関節に異常なスペースを認めた供試馬 2 頭 (No. 1 および No. 5) では、安静時喉頭内視鏡検査における右側 AC 小角突起の外転不全と口蓋咽頭弓の吻側変位 (Rosatral deviation of palate pharyngeal arch, RDPA、図 4-1) および経皮的喉頭超音波検査で右側の TC が描出されず CC-TC 間にスペースがある所見 (図 4-3) と併せて 4-BAD と診断した。

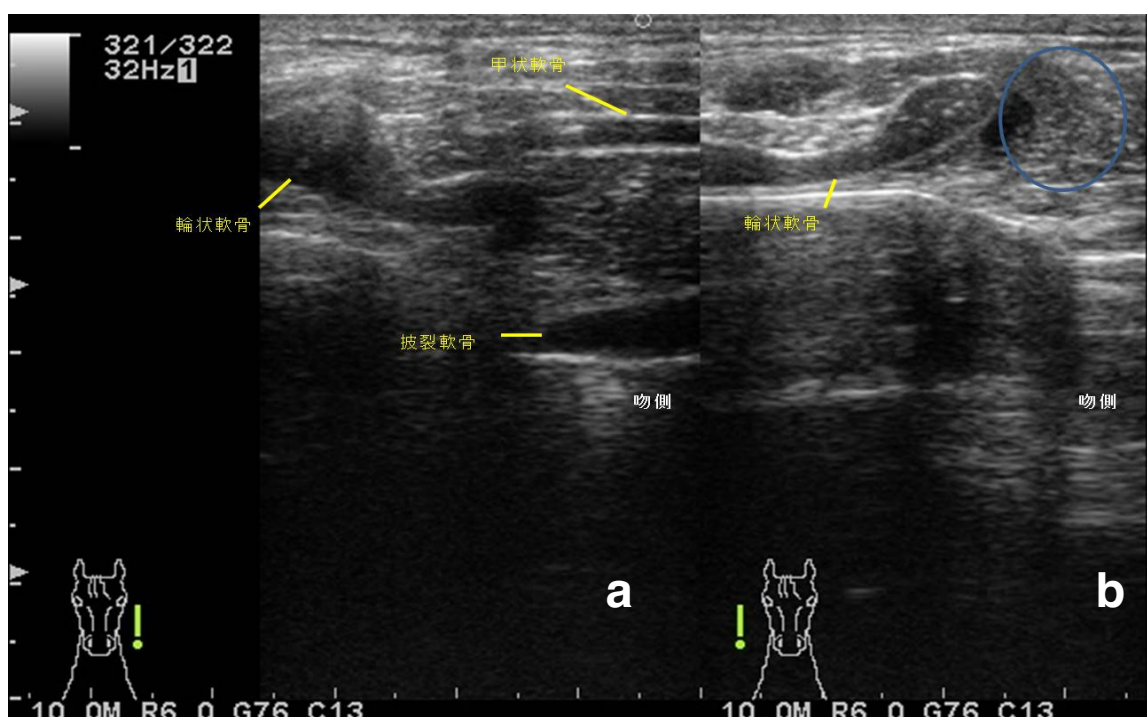


図 4-3. 第四鰓弓欠損症 (4-BAD) の経皮的喉頭超音波像

左の正常構造像 (a) では輪状軟骨 (CC)、披裂軟骨 (AC) および甲状軟骨 (TC) を確認できるが、右の 4-BAD 症例 (b) では TC は描出されず、CC と TC の間にスペースがある (青丸印)

4.3.2.3 輪状軟骨矢状陵背側突起の欠損の経皮的喉頭超音波検査所見

供試馬 8 頭 (No. 2, No. 3, No. 7, No. 8, No. 9, No. 10, No. 12, No. 13) に CC および CAD 横断像の描出により Ds 欠損を診断した (図 4-4)。通常、Ds は経皮的喉頭超音波による CAD 描出法で容易に描出できるが、Ds 欠損と診断した供試馬に関しては、本描出法を習得し多くの臨床例における経皮的喉頭超音波描出を経験した獣医師が、時間をかけて探査しても Ds を確認できなかった。

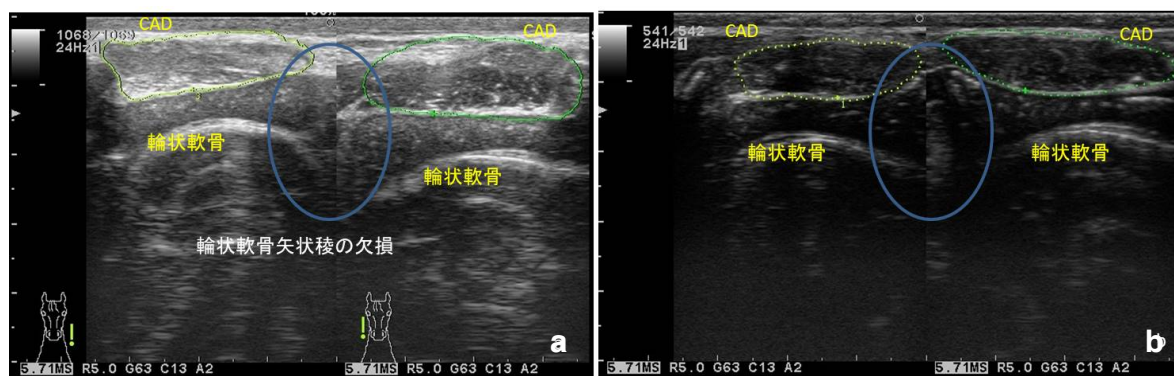


図 4-4. 輪状軟骨矢状陵背側突起 (Ds) の欠損の経皮的喉頭超音波像

Ds の欠損の超音波画像 (a) では、輪状軟骨背側突起の欠損を認める (青丸印)。これに対して正常馬の超音波画像 (b) では Ds を容易に確認できる。CAD: 背側披裂輪状筋。

4.3.2.4 披裂軟骨炎の経皮的喉頭超音波検査所見

安静時喉頭内視鏡検査において AC 小角突起の肥厚や外転不全を認めた供試馬では、経皮的喉頭超音波の外側横断像において AC および TC を描出した際に AC 骨体の肥厚を認めた供試馬 5 頭 (No. 6, No. 11, No. 14, No. 15, No. 16) を Ary Ch と診断した (図 4-5)。Ary Ch では、その程度は様々であったが、外側横断像において AC 軸側ラインの明瞭な異常および AC 骨体の明らかな異常を認めた。

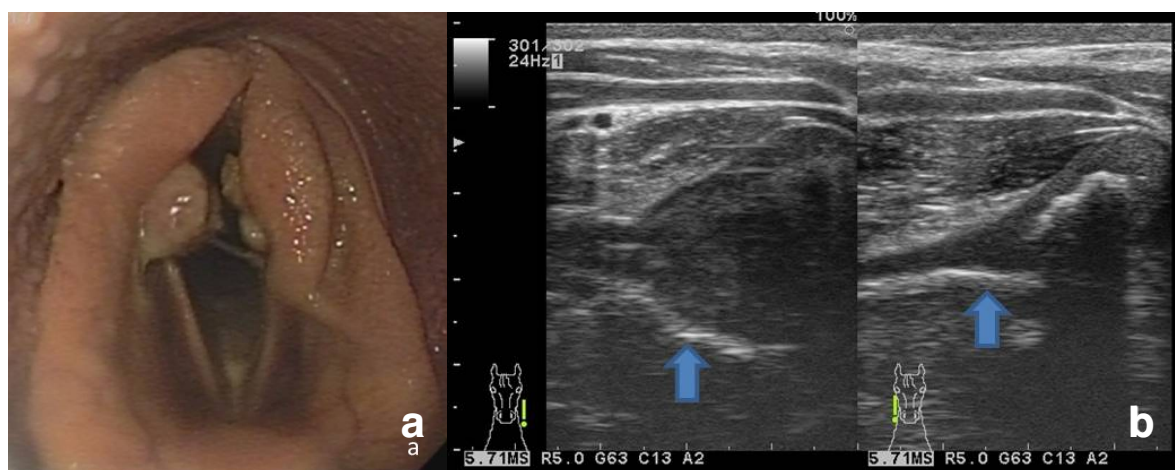


図 4-5. 披裂軟骨炎症例の安静時喉頭内視鏡像と経皮的喉頭超音波像

Ary Ch の安静時喉頭内視鏡像 (a) および経皮的喉頭超音波の外側横断像 (b) を示した。安静時喉頭内視鏡において左右の披裂軟骨 (AC) 小角突起軸側面に肉芽の形成と左 AC 小角突起の軸側への虚脱を認める。経皮的喉頭超音波像において AC 軸側のライン (青矢印) が正常側 (b の右図) と比較して不整であり、AC 全体の肥厚を認める。

4.3.2.5 披裂軟骨筋突起形成不全の経皮的喉頭超音波検査所見

安静時喉頭内視鏡検査において AC 小角突起の肥厚や外転不全を認めた供試馬 1 頭では、経皮的喉頭超音波の背外側縦断像において CC-AC 筋突起の関節を描出し、MPA 形成不全を診断した(図 4-6)。

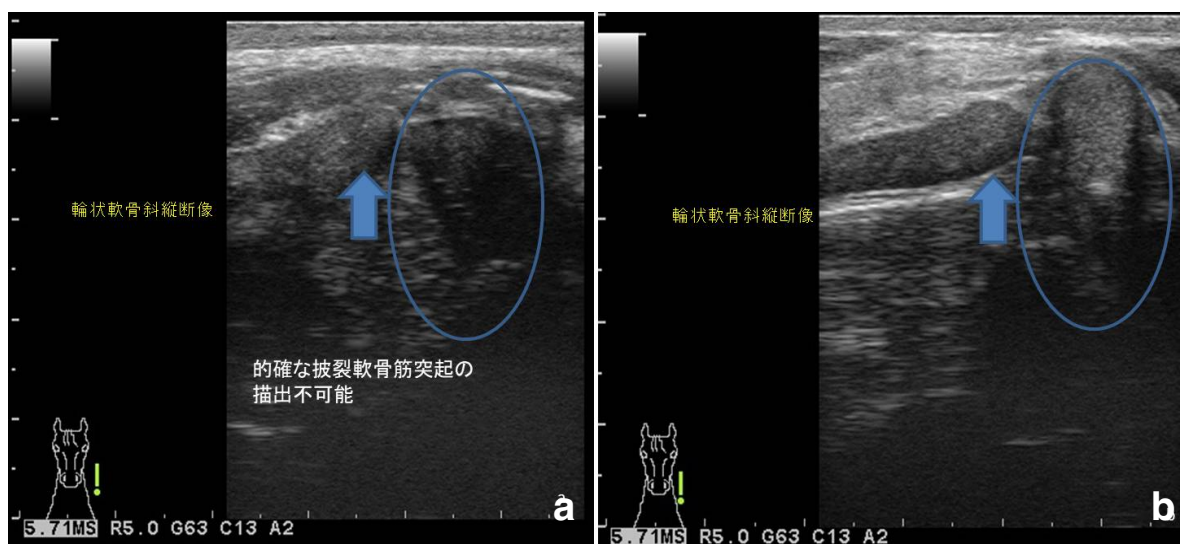


図 4-6. 披裂軟骨筋突起 (MPA) 形成不全の経皮的喉頭超音波像

MPA 形成不全の経皮的喉頭超音波像(a)では、MPA が輪状軟骨(CC)吻側縁(青矢印)よりも深い位置に確認できるが、正常像(b)では MPA は CC 吻側縁と同じあるいは浅い部位に位置している(b)。

4.3.3 供試馬に実施した治療

供試馬 216 頭中 209 頭に LP を実施した。LP を実施した供試馬 209 頭のうち 198 頭には、安静時喉頭内視鏡所見ならびに経皮的喉頭超音波所見より左側 RLN と診断して左側 LP を実施し、2 頭には右側 RLN と診断して右側 LP を実施した。右側 RLN と診断した供試馬 2 頭については、経皮的喉頭超音波検査において多少の形状異常は認めたものの喉頭構成軟骨の構成は正常であり、手術可能と判断して右側 LP を実施した。また、経皮的喉頭超音波所見より Ds 欠損と診断した供試馬 8 頭(表 4-1 の No. 2, 3, 7~10, 12, および 13)と、MPA 形成不全と診断した供試馬 1 頭(表 4-1 の No. 4)に左側 LP を実施した。しかしながら、MPA 形成不全の供試馬 No. 4 では、LP を完遂できず、手術を中止せざるを得なかった。

残りの 7 頭のうち 5 頭は経皮的喉頭超音波所見より Ary Ch と診断した表 4-1 の供試馬 No. 6, 11, 14~16 であり、2 頭は安静時喉頭内視鏡所見ならびに経皮的喉頭超音波所見より 4-BAD と診断した表 4-1 の供試馬 No. 1 および 5 であった。供試馬 No. 11 および 14 の 2 頭については、以前に LP を実施した後に Ary Ch となった症例であった。供試馬 No. 6, 11 および 14 に披裂軟骨切除術を実施し、供試馬 No. 15 および 16 については抗生剤と消炎剤の投与を実施した。4-BAD の供試馬 No. 1 および 5 は経過観察とした。

4.4 考察

本研究では、馬 RLN において AC 小角突起を外転させる CAD の萎縮や変性を簡便に描出評価するとこと目的に経皮的喉頭超音波による CAD 描出法を考案開発したが、本章の喉頭片麻痺を有する馬への臨床応用では典型的な左側 RLN の LCAD の萎縮や変性の描出評価と同様に、発症頻度の低い右側 RLN の RCAD の萎縮や変性を描出評価できた。加えて、経皮的喉頭超音波による CAD 描出法は喉頭構成軟骨の異常に関する情報を得ることを可能にし、Ds の欠損、Ary Ch、4-BAD および MPA 形成不全の診断を可能にした。本章の結果から、安静時喉頭内視鏡検査と経皮的喉頭超音波による CAD 描出法による超音波検査を併用することによって、馬の上部気道疾患の診断精度をさらに高めることができると結論された。

経皮的喉頭超音波による CAD 描出法による超音波検査を実施した供試馬の 7.4% に喉頭構成軟骨に何らかの異常を認め、Ds 欠損、披裂軟骨炎、4-BAD および MPA 形成不全を診断できた。馬の CC の解剖学的バリエーションについてはすでに報告があり、とくに CC 尾側縁は個体差として様々な形状を呈し、LP 実施時のインプラント刺入部位などの参考にされている[18, 67]。また、馬外科医は、LP 実施時に CC の厚さや柔軟性を評価すべきであるという報告もある[77]。現在、馬 RLN の治療に最も多く選択されている治療法は LP であり、LP では CC および MPA に堅牢な非吸収性プロテアーゼを刺入して CC と MPA を相当な力で牽引することで AC 小角突起の外転を獲得する [59, 60]。馬 RLN に対する LP で良好な AC 小角突起の外転を得られない際の最も多い理由は AC 小角突起の外転におけるルーズニングと言われている[1, 6, 21]。このルーズニングの発生には様々な理由が考えられるが、MPA の崩壊や CC が牽引力に負けて背側へベンディングすることも理由に挙げられている[80]。したがって、LP の術前または術中にこれらのインプラント刺入部位となるこれらの軟骨の評価が可能であれば、手術成績の向上に繋がると考えられる。超音波検査は、筋肉同様、軟骨の描出に優れており、LP に重要な AC や CC の解剖学的構造を評価できる。実際に、本章では Ds 欠損を認めた供試馬 8 頭すべてにおいて、術前の経皮的喉頭超音波検査所見に一致して術中に CC の異形成を触知し、常法通り LP を完遂することが可能であった。

Ary Ch は、LP 実施後の合併症の一つとして挙げられるが[46, 85]、原因不明の発症もある。AC 小角突起軸側面の肉芽のみを認める場合や AC 骨体における感染が原因で骨体の肥厚や壊死を認める場合もある[41]。AC 小角突起軸側面の肉芽のみであれば、抗生剤の全身投与やレーザーによる肉芽切除で十分対応できることもあるが、AC 骨体における感染に関して

は抗生剤ではコントロールできない場合が多い。経皮的喉頭超音波による CAD 描出法による超音波検査で得られる画像を考えれば、馬に上部気道疾患を疑う場合には本手技において AC 骨体を評価することは必須と言っても良いと考える。

本章で 4-BAD と診断した供試馬 2 頭については、経皮的喉頭超音波による CAD 描出法でベースラインイメージとして描出する 3 つの喉頭構成軟骨の描出時にその異常像を確認したことから、単純な右喉頭片麻痺として LP を実施しても完遂できないと判断し、LP は実施しなかった。馬の右喉頭片麻痺および 4-BAD には多数の既報があり、一般的に単純な右喉頭片麻痺や喉頭構成軟骨の形状などから可能であれば右側で LP を実施することで AC 小角突起の外転を獲得できるが[38]、4-BAD であれば LP は不適応、あるいは予後の悪い外科手術となり AC 小角突起の切除(披裂軟骨切除術, Aytenuidectomy)を考慮する必要がある [39]。馬の 4-BAD については 1 歳馬 2,900 頭以上を用いた調査でその発生率は 0.21%であったと報告されており [55]、遭遇する機会は決して多くはないが、馬の喉頭における奇形として知っておくべき疾患である。従来、その診断は喉頭内視鏡検査や触診、X 線撮影により TC 外側翼や CC-TC 関節の触知が用いられてきたが、経皮的喉頭超音波による CAD 描出法による超音波検査のように簡便な経皮的検査法を利用できることは有意義であると考え。

馬の MPA 形成不全については過去に報告はないが、認識している馬外科医もいる疾患(異形成)である。当センターにとって、当該症例(供試馬 No. 4)が初めての経験事例であり、確証の持てぬまま LP に臨んだが完遂できず、手術を中止した。経皮的喉頭超音波による CAD 描出法による超音波検査によって術前診断が可能であったが、手術不適応という判断には至らなかったことは馬に不要な侵襲を加えてしまう結果となった。

以上のことから、安静時喉頭内視鏡検査と経皮的超音波による CAD 描出法による超音波検査を併用して喉頭の外形や運動状態と内部構造の情報を同時に得ることで、馬の上部気道疾患の診断精度をさらに高めることができると結論された。経皮的超音波 CAD 描出法によって馬の喉頭構成軟骨の描出などより多くの情報収集が可能となることは大変有意義であり、馬臨床では上部気道疾患の診断鑑別に加え、LP 術後の喉頭構成軟骨の描出など術後治療経過の把握や LP の術後成績の向上など発展性もあると考える。

4.5 小 括

第Ⅲ章では、第Ⅱ章で考案した馬の経皮的超音波による CAD 描出法が臨床例においても安全かつ極短時間で実施可能であり、馬の RLN 診断ツールの一つとして有用であることを示した。本章では、上部気道疾患を有する馬サラブレッド種の臨床例において、安静時喉頭内視鏡検査と経皮的超音波 CAD 描出法による超音波検査を併用して実施し、経皮的超音波による CAD 描出法の有用性を検討した。

2014～2021 年の間に NOSAI みなみ家畜高度医療センターへ喘鳴や運動不耐性を主訴に来院した馬サラブレッド種および他の診療施設で喉頭片麻痺と診断され LP の実施のために紹介来院した馬サラブレッド種の合計 216 頭を供試馬とした。これらの供試馬に対して、安静時喉頭内視鏡検査とともに本研究で開発した経皮的超音波による CAD 描出法による超音波検査を実施した。

供試馬の年齢は 2.8 ± 1.0 歳、体重は 499.6 ± 36.3 kg であり、牡馬 174 頭、牝馬 41 頭および騾馬 1 頭であった。安静時喉頭内視鏡検査では、供試馬 212 頭に左側 AC 小角突起の外転不全を認め、4 頭に右側 AC 小角突起の外転不全を認め、喉頭片麻痺を確認した。安静時喉頭内視鏡グレードは、左側 AC 小角突起の外転不全を認めた供試馬 212 頭ではグレード 3a が 9 頭、グレード 3b が 65 頭、グレード 3c が 62 頭およびグレード 4 が 76 頭であり、右側 AC 小角突起の外転不全を認めた供試馬 4 頭についてはすべてグレード 4 であった。経皮的喉頭超音波検査では、喉頭構成軟骨の位置関係や形状に異常を認めなかった 198 頭 (91.7%) に LCAD の強い萎縮および変性像を認め左側 RLN と診断し、2 頭 (0.91%) に RCAD の萎縮および変性像を認め右側 RLN と診断した。残りの供試馬 16 頭 (7.4%) に何らかの喉頭構成軟骨の異常を認め、8 頭で Ds の欠損、5 頭で Ary Ch、2 頭で 4-BAD および 1 頭で MPA 形成不全と診断した。左側 RLN と診断した 198 頭に左側 LP を実施し、右側 RLN と診断した 2 頭には右側 LP を実施した。また、Ds 欠損と診断した 8 頭および MPA 形成不全と診断した 1 頭に左側 LP を実施した。しかしながら、MPA 形成不全の供試馬では LP を完遂できず、手術を中止せざるを得なかった。Ary Ch と診断した 3 頭に披裂軟骨切除術を実施し、抗生剤と消炎剤の投与を実施した。4-BAD と診断した 2 頭は経過観察とした。

以上のことから、安静時喉頭内視鏡検査と経皮的超音波 CAD 描出法を併用して喉頭の外形や運動状態と内部構造の情報を同時に得ることで、馬の上部気道疾患の診断精度をさらに高めることができると結論された。

総括

わが国における馬の飼養頭数は 1994 年に 12 万頭を超えていたが、その後減少して 2011 年以降は 7 万 5 千頭余りで推移している。現在飼養されている馬のうち約 4 万 3 千頭は軽種馬であり、競走馬は約 1 万 9 千頭が飼養されている。サラブレッド種では毎年 7 千頭程度の産駒が生産され、競走馬として育成されている。競走馬の最大運動時の呼吸数は約 150 回/分にも達し、上部気道を通る空気の流速は安静時の約 30 倍にもなる。最大運動時には吸気時に上部気道内へ空気を引き込む力が非常に大きくなるが、競走馬ならびに育成馬に咽喉頭部の構造的異常や機能障害が存在すると気道内の空気の流れが阻害され運動能力の低下(プアパフォーマンス)が引き起こされる。馬の上部気道疾患の種類は多く、その中でも反回喉頭神経障害 (Recurrent laryngeal neuropathy, RLN) は代表的な疾患であり、競走馬としてのトレーニングを受ける育成馬に立ちはだかる関門の一つである。わが国でも古くから「喘鳴症(のどなり)」と呼ばれる馬の上部気道症候群が知られ、RLN がその主要な原因として捉えられているが、馬臨床では「喉頭片麻痺」という疾患名が広く用いられている。

馬の RLN の診断法として安静時喉頭内視鏡検査が広く利用されており、現在では騎乗運動時喉頭内視鏡検査が上部気道疾患の診断の Golden Standard として応用されている。また、体表から背側披裂輪状筋 (Cricoarytenoideus dorsalis muscle, CAD) を触診してその萎縮の程度を評価する伝統的な手法や外側披裂輪状筋 (Cricoarytenoidus lateralis muscle, CAL) の超音波検査法が利用されている。CAD は披裂軟骨の外転を司る唯一の筋肉であり、馬の RLN を考える上で重要な筋肉であることが認知されているが、超音波検査による評価に関してはその解剖学的位置から馬の体表からの CAD へのアプローチは困難とされてきた。

そこで本研究では、馬の RLN 診断ツールとして臨床応用できる経皮的超音波による CAD 描出法の開発を試みた。具体的には、CAD 描出の最もシンプルな喉頭超音波検査法として反対側から検査側への圧迫により CAD にアプローチする新たな超音波描出法を考案し、左側背側披裂輪状筋 (Left cricoarytenoideus dorsalis muscle, LCAD) の萎縮や変性を診断できるかを検討した。まず、第 I 章でわが国における馬の RLN に対する喉頭形成術 (Laryngoplasty, LP) の実施状況を確認した。次に、第 II 章で今回考案した馬の経皮的超音波 CAD 描出法を屠体材料および生体馬を利用して検討し、第 III 章では考案した経皮的超音波 CAD 描出法を用いた馬の RLN 診断法を検討した。最後に、第 IV 章で今回開発した経皮的超音波 CAD 描出法を日常診療に臨床応用した。

第 I 章では、プアパフォーマンスの解消に外科手術を要する馬 RLN のわが国における発症状況を把握するため、サラブレッド種競走馬/育成馬を対象に RLN に対する LP の実施率に関する多施設調査を実施した。2015～2020 年の 6 年間に国内 5 か所の馬二次診療施設において RLN に対する LP を実施したサラブレッド種の年齢別の LP 実施状況を確認した。また、各年におけるサラブレッド種の血統登録頭数および競走馬登録頭数をジャパン・スタッドブック・インターナショナルより引用し、サラブレッド種の生産頭数(出生頭数)を農林水産省生産局畜産部畜産振興課が集計した馬関係資料より引用して国内のサラブレッド種における LP 実施率を概算した。LP は 2 歳から 8 歳までのサラブレッド種 597 頭に年間 83～124 頭に実施され、2 歳馬が 247 頭(41.3%)と最も多く、次いで 3 歳馬が 188 頭(31.4%)であり、2～3 歳馬で約 7 割を占めた。LP 実施状況を 2 歳から 6 歳まで網羅できた 2013 年産駒および 2014 年産駒では、出生頭数は 6,800 頭前後、血統登録頭数は 6,650 頭前後および競走馬登録頭数は 6,150 頭前後であり、生産されたサラブレッド種の 9 割が競走馬として登録され、LP 実施率は競走馬登録頭数に対して 1.92%および 1.81%であった。わが国では、少なくともサラブレッド種産駒の 60 頭に 1 頭の割合で RLN によるプアパフォーマンスの解消のために LP が実施されていることが明らかになった。RLN の発症が 2～3 歳馬で多いということは、潜在的にはもっと早い段階で喉頭部の筋変性や軽度の外転不全が起きていると示唆された。調教前の 1 歳馬や調教早期の育成馬で喉頭部の筋変性を馬にストレスを加えることなく容易に評価できるスクリーニング検査法の開発の必要性が示された。

第 II 章では、馬において「検査側の反対側から喉頭を圧迫する」というシンプルな操作を加える経皮的超音波 CAD 描出法を考案し、サラブレッド種の屠体材料を用いて CAD の超音波描出画像を確認し、上部気道疾患のない生体において考案した経皮的超音波による CAD 描出法の臨床応用の可能性を検討した。屠体材料での切断面と比較しながら、水中に沈めた喉頭の超音波像では、縦断像ならびに横断像ともに甲状軟骨 (Thyroid cartilage, TC)、披裂軟骨 (Arytenoid cartilage, AC) および輪状軟骨 (Cricoid cartilage, CC) の 3 つの軟骨および左右の CAD について超音波画像の描出が可能であり、その形状などを確認できた。生体馬における経皮的喉頭超音波検査のランドマーク画像である水平縦断像は容易に描出可能であり、3 つの軟骨は屠体材料での検討と同様に特徴的な形状をそのまま描出可能であった。矢状断画像および横断像ともに超音波像描出中は反対側からの圧迫を継続する必要があったが、馬が嫌悪感を示すこともなく安全に実施することが可能であった。また、反対側からの圧迫により背

外側からのアプローチが容易となり、左右の CAD のほぼ完全かつ診断に値すると思われる明瞭な全体像を描出することができた。

第Ⅲ章では、サラブレッド種育成馬または競走馬において第Ⅱ章で考案した経皮的喉頭超音波 CAD 描出法を用いて超音波画像評価を実施し、RLN のない馬 30 頭(コントロール群)と RLN の症状を示す馬 134 頭(RLN 群)について左右 CAD の超音波像を比較した。すべての供試馬において、無鎮静および鼻捻保定下で安静時喉頭内視鏡検査を実施し、メドミジン 5～7 μg/kg 静脈内投与の鎮静下で経皮的喉頭超音波 CAD 描出法を実施した。安静時喉頭内視鏡検査では、既報に従い右側披裂軟骨小角突起最大外転時の左披裂軟骨小角突起の外転位置で安静時喉頭内視鏡グレードを分類した。経皮的喉頭超音波 CAD 描出法は左右の喉頭において 2 回実施し、軸族縦断像による左右の CAD の厚さおよび横断像による断面積、単位面積当たりのピクセル数および超音波輝度の計測などの超音波画像評価を実施した。RLN 群ではすべての供試馬に LP を実施し、術中に LCAD の厚さを実測した。安静時喉頭内視鏡グレードはコントロール群でグレード 1 が 20 頭、グレード 2a が 9 頭、グレード 2b が 1 頭、RLN 群ではグレード 3a が 2 頭、グレード 3b が 47 頭、グレード 3c が 31 頭、グレード 4 が 54 頭であった。超音波画像評価では、コントロール群では、左右の CAD の厚さは 9mm 前後、断面積は 2.5 cm² 前後と差は認められず、CAD の厚さならびに断面積における RCAD に対する LCAD の割合(L:Rratio)は 1.0 前後であった。RLN 群では CAD の厚さと断面積は LCAD で 7mm 前後と 1.8cm²、RCAD で 10mm 前後と 2.7cm²と LCAD に有意な減少を認め、L: R ratio は 0.7 前後であった。また、既報に一致して安静時喉頭内視鏡グレードが高いほど LCAD はより強く萎縮していることが示された。加えて、安静時喉頭内視鏡グレードが高い供試馬で RCAD の代償性肥大というこれまでに報告のない新しい知見を得た。考案した経皮的喉頭超音波 CAD 描出法は馬の RLN 診断ツールの一つとして有用であると結論された。

第Ⅳ章では、上部気道疾患を有する馬サラブレッド種の臨床例において、安静時喉頭内視鏡検査と経皮的超音波 CAD 描出法を併用して実施し、経皮的超音波 CAD 描出法の有用性を検討した。2014～2021 年の間に NOSAI みなみ家畜高度医療センターに来院した馬サラブレッド種 216 頭を供試馬とし、安静時喉頭内視鏡検査とともに本研究で開発した経皮的超音波 CAD 描出法を用いた経皮的喉頭超音波検査を実施した。安静時喉頭内視鏡検査では、212 頭に左側 AC 小角突起の外転不全を認め、4 頭に右側 AC 小角突起の外転不全を認め、喉頭片麻痺を確認した。安静時喉頭内視鏡グレードは、左側 AC 小角突起の外転不全を認めた 212 頭ではグレード 3a が 9 頭、グレード 3b が 65 頭、グレード 3c が 62 頭およびグレード 4 が

76 頭であり、右側 AC 小角突起の外転不全を認めた 4 頭についてはすべてグレード 4 であった。経皮的超音波 CAD 描出法では、喉頭構成軟骨の位置関係や形状に異常を認めなかった 198 頭(91.7%)に LCAD に強い萎縮および変性像を認めたことから左側 RLN と診断し、2 頭(0.91%)に RCAD の萎縮および変性像を認めたことから右側 RLN と診断した。残りの 16 頭(7.4%)に何らかの喉頭構成軟骨の異常を認め、8 頭で CC 矢状陵背側突起(Ds)の欠損、5 頭で披裂軟骨炎(AryCh)、2 頭で第四鰓弓欠損症(4-BAD)および 1 頭で AC 筋突起(MPA)形成不全と診断した。左側 RLN と診断した 198 頭に左側 LP を実施し、右側 RLN と診断した 2 頭には右側 LP を実施した。また、Ds 欠損と診断した 8 頭および MPA 形成不全と診断した 1 頭に左側 LP を実施したが、MPA 形成不全の供試馬では LP を完遂できず、手術を中止せざるを得なかった。Ary Ch と診断した 3 頭に披裂軟骨切除術を実施し、抗生剤と消炎剤の投与を実施した。4-BAD と診断した 2 頭は経過観察とした。以上のことから、安静時喉頭内視鏡検査と経皮的超音波 CAD 描出法を併用して喉頭の外形や運動状態と内部構造の情報を同時に得ることで、馬の上部気道疾患の診断精度をさらに高めることができると結論された。

本研究において採用した手技は、喉頭正中に存在する CAD の描出に関して、反対側から圧迫し、届かないなら寄せるというシンプルかつロジカルな手法を用いて、馬臨床の先進国である欧米の獣医師達の「解剖学的に不可能」という考えを覆す結果をもたらした。非侵襲的な手技であることも意義が大きく、本手技の応用により早期の RLN 診断や喉頭構成軟骨の評価など、今後も展開を広げる可能性があると考ええる。本研究は、馬の上部気道疾患における新たな診断ツールとして経皮的超音波 CAD 描出法を確立した。

謝 辞

本研究の遂行および本論文作成にあたり、終始ご指導およびご校閲を賜りました、酪農学園大学獣医学群獣医学類山下和人教授に深甚なる感謝の意を表します。また、本論文作成において、終始丁寧かつ適切なご指導およびご助言を賜りました、酪農学園大学獣医学群獣医学類中出哲也教授、同上野博史教授、鹿児島大学共同獣医学部三角一浩教授に深く感謝の意を申し上げます。

また、第一章、疫学的な調査は私一人では到底完遂することは不可能であり、情報共有のみならず調査に関する多くのご助言をいただいた JRA 日本中央競馬会宮崎育成牧場業務課酒井哲志先生、貴重な情報提供にご快諾いただきました JRA 日本中央競馬会美穂トレーニングセンター東樹宏太先生、社台ホースクリニック加藤史樹先生、日高軽種馬農業協同組合前田昌也先生ならびに水口悠也先生、日本軽種馬協会中西信吾先生、BTC 軽種馬育成調教センター多田健一郎先生、第 II 章および第 III 章に関してはすでに英語論文として掲載済みであり、論文作成時にはデータ採取から構成など多大なるご助言とご指導承りました樋口 徹先生に深く感謝申し上げます。

また、2016 年に来日された Cornell 大学大動物外科 Norm. G. Ducharme 教授の前でウマ科学会症例検討会の 1 題として口頭発表できたこと、本手技を認めていただけたことに加え、論文校閲をお引き受けくださったことは本研究を進める大きな原動力になりました。Ducharme 先生ご本人およびウマ科学会関係各位に深謝いたします。

最後に私の意志を常に尊重し、この大学院生活ならびに研究生生活を支えてくれた妻友子をはじめ家族に心より感謝の意を表し、心の底から御礼申し上げます。

引用文献

1. Ahern, B. J. and Parente, E. J. 2008. Surgical complications of the equine upper respiratory tract. *Vet Clin North Am Equine Pract* **24**: 465-484.
2. Ahern, B. J. Van Eps, A. W., Boston, R. C. and Franklin, S. H. 2017. In vitro comparison of 3 techniques of prosthesis attachment to the muscular process of the equine arytenoid cartilage. *Vet. Surg.* **46**: 700-704.
3. Anderson, B. H., McGorum, B. C., Dixon, P. M., Robinson, N. E. and Schumacher, J. 2007. Recurrent Laryngeal Neuropathy: Clinical Aspects and Endoscopic Diagnosis. pp. 483-495. In: *Equine Respiratory Medicine and Surgery* (McGorum, B. C., Dixon, P. M., Robinson, N. E. and Schumacher, J. eds.). Saunders, Philadelphia.
4. Bathe, A. P. 1993. Left laryngeal hemiplegia in the horse: a survey of diagnostic criteria and management practices employed by 20 veterinary surgeons in Europe. *Equine vet Educ.* **5**: 84-85.
5. Brandenberger, O., Rossignol, F., Perkins, J. D., Lechartier, A., Mespoulhès-Rivière, C., Vitte, A., Rossignol, A., Ducharme, N. and Boening, K. J. 2017. Ex vivo biomechanical stability of 5 cricoid-suture constructs for equine laryngoplasty. *Vet. Surg.* **46**: 705-713.
6. Brown, J. A., Derksen, F. J., Stick, J. A., Hartmann, W. M. and Robinson, N.E. 2004. Effect of laryngoplasty on respiratory noise reduction in horses with laryngeal hemiplegia, *Equine Vet J* **36**: 420-425.
7. Cadiot, P. J. 1892. Treatment. pp. 15-78. In: *Roaring in horses, its pathology and treatment*, translated from the original by Thomas J. Watt Dollar, Swan Sommenschlein & Co. London.
8. Cadore, E. L., Izquierdo, M., Conceicao, M., Radaelli, R., Pinto, R. S., Baroni, B. M., Vaz, M. A., Alberton, C. L., Pinto, S. S., Cunha, G., Bottaro, M. and Krueel, L. F. M. 2012. Echo intensity is associated with skeletal muscle power and cardiovascular performance in elderly men. *Exp. Gerontol.* **47**: 473-478.
9. Cahill, J. and Goulden, B.E. 1986, Equine laryngeal hemiplegia Part I .A light microscopic study of peripheral nerves. *N. Z. Vet. J.* **34**: 161-169.
10. Cahill, J. and Goulden, B.E. 1986, Equine laryngeal hemiplegia Part IV. Muscle pathology. *N. Z. Vet. J.* **34**: 186-190.

11. Chalmers, H. J., Cheetham, J., Yeager, A. E. and Ducharme, N. G. 2006. Ultrasonography of the equine larynx. *Vet. Radiol. Ultrasound* **47**: 476-481.
12. Chalmers, H. J., Perkins, J. D., Caswell, J., Perkins, J., Goodwin, D., Viel, L., Ducharme, N. G., and Piercy R. J. 2015. Ultrasonography detects early laryngeal muscle atrophy in an equine neurectomy model. *Muscle Nerve* **53**: 583-592.
13. Chalmers, H. J., Yeager, A. E., Cheetham, J. and Ducharme, N. G. 2012. Diagnostic sensitivity of subjective and quantitative laryngeal ultrasonography for recurrent laryngeal neuropathy in horses. *Vet. Radiol. Ultrasound* **56**: 660-666.
14. Cheetham, J., Radcliffe, C. R., Ducharme, N. G., Sanders, I., Mu, L. and Hermanson, J. W. 2008. Neuroanatomy of the equine dorsal cricoarytenoid muscle: surgical implications. *Equine Vet. J.* **40**: 70-75.
15. Claudio, L., Lafortuna, L. and Saibene, F. 1991. Mechanics of breathing in horses at rest and during exercise. *J. exp. Biol.* **155**: 245-259
16. Cole, C. R. 1946. Changes in the equine larynx associated with laryngeal hemiplegia. *Am. J. Vet. Res.* **7**: 69-77.
17. Collins, N., Milne, E., Hahn, C. and Dixon, P. 2009. Correlation of the Havemeyer endoscopic laryngeal grading system with histopathological changes in equine Cricoarytenoideus dorsalis muscles. *Ir. Vet. J.* **62**: 334-338.
18. Cook, W. R. 1965. The diagnosis of respiratory unsoundness in the horse. *Vet. Rec.* **77**:516-528.
19. Dahlberg, J. A., Valdes-martinez, A., Boston, R. C. and Parente, E. J. 2011. Analysis of conformational variations of the cricoid cartilages in Thoroughbred horses using computed tomography. *Equine Vet. J.* **43**: 229-234.
20. Davenport, C. L. M., Tulleners, E. J. and Parente, E. J. 2001. The effect of recurrent laryngeal neurectomy in conjunction with laryngoplasty and unilateral ventriculocordectomy in thoroughbred racehorses. *Vet. Surg.* **30**: 417-421.
21. Dixon, P. M., McGorum, B. C., Railton, D. I., Hawe, C., Tremane., W. H., Dacre, K. and McCann, J. 2003. Long-term survey of laryngoplasty and ventriculocordectomy in an older, mixed-breed population of 200 horses. Part one: Maintenance of surgical arytenoid abduction and complications of surgery. *Equine Vet. J.* **35**: 389-396.

22. Dixon, P. M., Robinson, N. E. and Wade, J. F. 2004. Workshop summary. pp. 93-97. In: Proceedings of a workshop on equine recurrent laryngeal neuropathy, Havemeyer Foundation Monograph Series No.11 (Dixon, P.M., Robinson, N. E. and Wade. J. F. eds.), R&W Publications, Newmarket.
23. Ducharme, N. G. 2004. 4-Grade system for equine laryngeal function. Workshop summary. pp. 21-23. In: Proceedings of a workshop on equine recurrent laryngeal neuropathy, Havemeyer Foundation Monograph Series No.11 (Dixon, P.M., Robinson, N. E. and Wade. J. F. eds.), R&W Publications, Newmarket.
24. Ducharme, N.G. 2016. Equine upper airways: Intersection of evidence-based data, emerging discoveries, and the “veterinary art”, in Proceedings. Am Assoc Equine Prac. pp
25. Ducharme, N. G, Hackett, R. P., Ainsworth, D. M., Erb, H. N. and Shannon, K. J. 1994. Repeatability and normal values for measurement of pharyngeal and tracheal pressures in exercising horses. *Am. J. Vet. Res.* **55**: 368-374.
26. Ducharme, N. G., Horney, F. D., Hulland, T. J., Partlow, G. D., Schnurr, D. and Zutrauen, K. 1989. Attempts to restore abduction of the paralyzed equine arytenoid cartilage II. nerve implantation. *Can. J. Vet, Res.* **53**: 210-215.
27. Ducharme, N. G., Horney, F. D., Partlow, G. D. and Hulland, T. J. 1989. Attempts to restore abduction of the paralyzed equine arytenoid cartilage I. nerve-muscle pedicle transplants. *Can. J. Vet. Res.* **53**: 202-209.
28. Ducharme, N.G., Viel, L., Partlow, G.D., Hulland, T.J. and Horney, F.D. 1989. Attempts to restore abduction of the paralyzed equine arytenoid cartilage III. Nerve anastomosis. *Can. J. Vet. Res.* **53**: 216-223.
29. Duncan, I. D., Amundson, J., Cuddon, P. A., Sufit, R., Jackson, K. F. and Lindsay, W. A. 1991. Preferential denervation of the adductor muscles of the equine larynx. I: Muscle pathology. *Equine Vet. J.* **23**: 94-98.
30. Duncan, I. D., Baker, G. J., Heffron, C. J. and Griffiths, I. R. 1977. A correlation of the endoscopic and pathological changes in subclinical pathology of the horse's larynx. *Equine Vet. J.* **9**: 220–225.
31. Duncan, I. D. and Griffiths, I. R. 1974. Pathological changes in equine laryngeal muscles and nerves. *Proc. Am. Ass. Practinrs.* **19**: 97-113.

32. Duncan, I. D., Griffiths, I. R. and Madrid, R. E. 1978. A light and electron microscopic study of the neuropathy of equine idiopathic laryngeal hemiplegia. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* **4**: 483-501.
33. Duncan, I. D., Griffiths, I. R., McQueen, A. and Baker, G. J. 1974. The pathology of equine laryngeal hemiplegia. *Acta Neuropathol. (Berl)* **27**: 337-348.
34. Duncan, I. D., Reifenrath, P., Jackson, K. F. and Clayton, M. 1991. Preferential denervation of the adductor muscles of the equine larynx. II: Nerve pathology. *Equine Vet. J.* **23**: 99-103.
35. Elliott, S. and Cheetham, J. 2019. Meta-analysis evaluating resting laryngeal endoscopy as a diagnostic tool for recurrent laryngeal neuropathy in the equine athlete. *Equine Vet. J.* **51**: 167-172.
36. Fjordbakk, C. T., Revold, T., Goodwin, D. and Piercy, R. J. 2015. Histopathological assessment of intrinsic laryngeal musculature in horses with dynamic laryngeal collapse. *Equine Vet. J.* **47**: 603-608.
37. Fleming, G. 1889. Roaring in horses (laryngismus paralyticus): its history, nature, causes, prevention, and treatment, Williams and Jenkins, New York.
38. Garrett, K. 2015. Evaluation and treatment of the horse with fourth branchial arch defects. pp. 35-41. In: *Advances in equine upper respiratory surgery* (Hawkins, J. ed.), Wiley Blackwell, Iowa.
39. Garrett, K. 2015. Evaluation and treatment of the horse with fourth branchial arch defects. pp. 69-76. In: *Advances in equine upper respiratory surgery* (Hawkins, J. F. ed.), Wiley Blackwell, Iowa.
40. Garrett, K. S. 2010. How to ultrasound the equine larynx. *Proc. Am. Ass. Equine Practnrs.* **56**: 249-256.
41. Garrett, K. S., Embertson, R. M., Woodie, J. B. and Cheetham, J. 2013. Ultrasound features of arytenoid chondritis in Thoroughbred horses. *Equine Vet. J.* **45**: 598-603.
42. Garrett, K. S., Woodie, J. B. and Embertson, R. M. 2011. Association of treadmill upper airway endoscopic evaluation with results of ultrasonography and resting upper airway endoscopic evaluation. *Equine Vet. J.* **43**: 365-371.
43. Garrett, K. S., Woodie, J. B., Embertson, R. M. and Pease, A. P. 2009. Diagnosis of laryngeal dysplasia in five horses using magnetic resonance imaging and ultrasonography. *Equine Vet. J.* **41**: 766-771.
44. Harrison G. D, Duncan I. D. and Clayton M. K. 1992. Determination of the early age of onset of equine recurrent laryngeal neuropathy. 1. Muscle pathology. *Acta Neuropathol.* **84**: 307-315.

45. Hawkins, J. F., Tulleners, E. P., Ross, M. W., Evans, L. H. and Raker, C. W. 1997. Laryngoplasty with or without ventriculectomy for treatment of left laryngeal hemiplegia in 230 racehorses. *Vet. Surg.* **26**: 484-491.
46. Hay, W. P., Tulleners, E. P. and Ducharme, N. G. 1993. Partial arytenoidectomy in the horse using an extralaryngeal approach. *Vet. Surg.* **22**: 50-56.
47. Hillidge, C. J. 1986. Interpretation of laryngeal function tests in the horse. *Vet. Rec.* **118**: 535-536.
48. Hobday, F. 1935. The surgical treatment of roaring in horses. *Vet. Rec.* **15**: 1535-1539.
49. 帆保誠二. 2000. 呼吸異常を呈したサラブレッド種競走馬 1,008 頭における上気道の内視鏡検査所見. *日獣会誌* **53**: 661-663.
50. 帆保誠二, 間 弘子. 2000. サラブレッドの喉頭片麻痺診断における 気管内圧測定法の有用性. *日獣会誌* **53**: 668-672.
51. ジャパン・スタッドブック・インターナショナル. 2020. サラブレッドの生産頭数等各種統計. https://www.jairs.jp/contents/tokei/tokei_template.html [2021 年 11 月 13 日閲覧]
52. JRA 日高育成牧場・宮崎育成牧場. 2005. 育成期における 上気道所見と競走期パフォーマンスとの関連について. <http://www.jra.go.jp/training/research.html> [2021 年 11 月 17 日閲覧]
53. Kelly, P. G., Reardon, R. J. M., Johnston, M. S. and Pollock, P. J. 2013. Comparison of dynamic and resting endoscopy of the upper portion of the respiratory tract in 57 Thoroughbred yearlings. *Equine Vet. J.* **45**: 700-704.
54. Kenny, M., Cercone, M., Rawlinson, J. J., Ducharme, N. G., Bookbinder, L., Thompson, M. and Cheetham, J. 2017. Transoesophageal ultrasound and computer tomographic assessment of the equine cricoarytenoido dorsalis muscle: Relationship between muscle geometry and exercising laryngeal function. *Equine Vet. J.* **49**: 395-400.
55. Kidd, J. A. and Slone, D. E. 2002. Treatment of laryngeal hemiplegia in horses by prosthetic laryngoplasty, ventriculectomy and vocal cordectomy. *Vet. Rec.* **150**: 481-484.
56. Lane J. G. 2001. Fourth branchial arch defects in thoroughbred horses: a review of 60 cases. Proceedings of 2nd World Equine Airways Symposium, Scotland.
57. Lane, J. G. 2004. 5-point grading system of laryngeal function in horses during quiet breathing. Workshop summary. pp. 24-25. In: Proceedings of a workshop on equine recurrent laryngeal

- neuropathy, Havemeyer Foundation Monograph Series No.11 (Dixon, P.M., Robinson, N. E. and Wade. J. F. EDS.), R&W Publications, Newmarket.
58. Lane, J. G., Ellis, D. R. and Greet, T. R. C. 1987. Observations on the examination of Thoroughbred yearlings for idiopathic laryngeal hemiplegia. *Equine Vet. J.* **19**: 531-536.
59. Leutton, J. L. and Lumsden, J. M. 2015. Dynamic respiratory endoscopic findings pre- and post laryngoplasty in Thoroughbred racehorses. *Equine Vet. J.* **47**: 531-536.
60. Lopes-Plana, C., Sautet, J. Y. and Ruberte, J. 1993. Muscular pathology in equine laryngeal neuropathy. *Equine Vet. J.* **25**: 510-513.
61. Marks, D., Mackay-Smith, M. P., Cushing, L. S. and Leslie, J. A. 1970. Use of a prosthetic device for surgical correction of laryngeal hemiplegia. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **157**: 157-163.
62. 目加田成淳, 田口 清, 山田明夫. 1997. ばんえい競走馬咽喉頭部の内視鏡所見. 日獣会誌 **50**: 268-270.
63. 目加田成淳, 田口 清, 山田明夫. 2000. 2~3歳のばんえい競走馬の喉頭片麻痺と体型および性別との関係. 日獣会誌 **53**: 668-672.
64. Morris, E. and Seeherman, H. J. 1990. Evaluation of upper respiratory function during strenuous exercise in racehorses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **196**: 431-438.
65. 日本馬事協会. 2019. 馬の統計&資料 I. 馬の総飼養頭数. https://www.bajikyo.or.jp/pdf/31kankeisiryoyou_2.pdf [2021年11月1日閲覧]
66. 農林水産省. 2020. 競馬の概況. <https://www.maff.go.jp/j/chikusan/keiba/lin/attach/pdf/index-66.pdf> [2021年11月1日閲覧]
67. 農林水産省生産局畜産部畜産振興課. 2020. 馬関係資料. <https://www.bajikyo.or.jp/pdf/31kankeisiryoyou.pdf> [2021年11月1日閲覧]
68. Parente, E. J., Franklin, S. H., Derksen, F. J., Weishaupt, M. A., Chalmers, H. J. and Tessier, C. 2012. Diagnostic Techniques in Equine Upper Respiratory Tract Disease. pp. 536-557. In: *Equine Surgery*, 4th ed. (Stick, J. A. and Auer, J. A. eds), W.B. Saunders, Philadelphia.
69. Parente, E. J. and Hawkins, J. 2015. Prosthetic laryngoplasty. pp. 29-33. In: *Advances in equine upper respiratory surgery* (Hawkins, J. F. ed.), Wiley Blackwell. Iowa.
70. Pascoe, J. R., Ferraro, G. L., Cannon, J. H., Arthur, R. M. and Wheat, J. D. 1981. Exercise-induced pulmonary hemorrhage in racing Thoroughbreds: a preliminary survey. *Am. J. Vet. Res.* **42**: 703-707.

71. Pollock, P. J., Reardon, R. J. M., Parkin, T. D. H., Johnston, M. S., Tate, J. and Love, S. 2009. Dynamic respiratory endoscopy in 67 Thoroughbred racehorses training under normal ridden exercise conditions. *Equine Vet. J.* **41**: 354-360.
72. Rakesh, V., Ducharme, N.G., Cheetham, J., Datta, A.K. and Pease, A.P. 2008. Implications of different degrees of arytenoid cartilage abduction on equine upper airway characteristics. *Equine Vet. J.* **40**: 629-635.
73. Rakestraw, P. C., Hackett, R. P., Ducharme, N. G., Nielen, G. J. and Pease, A. P. 1991. Arytenoid cartilage movement in resting and exercising horses. *Vet. Surg.* **20**: 122-127.
74. Raphael, C. F. 1982. Endoscopic findings in the upper respiratory tract of 479 horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **181**: 470-473.
75. Rech, A., Radaelli, R., Goltz, F. R., Telles da Rosa L. H., Shneider, D. and Pinto, R. S. 2014. Echo intensity is negatively associated with functional capacity in older women. *Age (Dordr)* **36**: 9708. doi: 10.1007/s11357-014-9708-2.
76. Rhee, H. S., Steel, C. M., Derksen, F. J., Rhobinson, N. E. and Hoh, J. F. 2009. Immunohistochemical analysis of laryngeal muscles in normal horses and horses with subclinical recurrent laryngeal neuropathy. *J. Histochem. Cytochem.* **57**: 787-800.
77. Rossignol, F., Vitte, A., Boening, J. Maher, M., Lechartier, A., Brandenberger, O., Martinflores, M., Lang, H., Walker, W. and Ducharme, N. G. 2015. Laryngoplasty in Standing Horses. *Vet. Surg.* **44**: 341-347.
78. 佐藤文夫. 2013. 若馬における咽喉頭部内視鏡検査所見について. 北獣会誌 **57**: 463-471.
79. Spires, V.C., Bourke, J. M. and Anderson, G. A. 1983. Assessment of the efficacy of an abductor muscle prosthesis for treatment of laryngeal hemiplegia in horses. *Aust. Vet. J.* **60**, 294-299.
80. Stick, J. A., Peloso, J. G., Morehead, J. P., Lloyd, J., Eberhart, S., Padungtod, P. and Derksen, F. J. 2001. Endoscopic assessment of airway function as a predictor of racing performance in Thoroughbred yearlings: 427 cases (1997-2000). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **219**: 962-967.
81. Strand, E., Martin, S. G., Haynes, P. F., Mclure, J. R. and Vice, J. D. 2000. Career racing performance in Thoroughbreds treated with prosthetic laryngoplasty for laryngeal neuropathy: 52 cases (1981-1989). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **217**: 1689-1696.

82. 田上正明. 2011. サラブレッド 302 頭の喉頭片麻痺に対する喉頭形成術の術後成績に関する回顧的調査. BTC ニュース 83 号. http://www.b-t-c.or.jp/btc_p300/btcn/btcn83/btcn083-05.pdf [2021 年 11 月 17 日閲覧]
83. 田代哲之, 坂本 紘, 高井 誠, 渡辺 茂, 上村 叶. 1981. 軽種馬の喘鳴症に対する喉頭側室（声嚢）粘膜摘出手術の臨床経験について. 日獣会誌 **34**: 433-436.
84. Townsend, N. 2013. Diagnosis and treatment of fourth branchial arch defects. *Equine Vet. Educ.* **25**: 278-281.
85. Tulleners, E. P., Harrison, I. W. and Raker, C. W. 1988. Management of arytenoid chondropathy and failed laryngoplasty in horses: 75 cases (1979-1985). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **192**: 670-675.
86. Watanabe, Y., Yamada, Y., Fukumoto, Y., Ishihara, T., Yokoyama, K., Yoshida, T., Miyake, M., Yamagata, E. and Kimura, M. 2013. Echo intensity obtained from ultrasonography images reflecting muscle strength in elderly men. *Clin. Interv. Aging* **8**: 993-998.
87. Witte, T. H., Mohammed, H. O., Radcliffe, C. H., Hackett, R. P. and Ducharme, N. G. 2009. Racing performance after combined prosthetic laryngoplasty and ipsilateral ventriculocordecotomy or partial arytenoidectomy: 135 Thoroughbred racehorses competing at less than 2400m (1997-2007). *Equine Vet. J.* **41**: 70-75.

**Research of external transcutaneous ultrasound technique in imaging and assessment of
the equine cricoarytenoideus dorsalis muscle.**

Masato Satoh

Veterinary Anesthesiology, Doctoral course of Veterinary Medicine,
Graduate School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University

The number of horses kept in Japan exceeded 120,000 in 1994, but has declined to around 75,000 since 2011. Currently about 43,000 Thoroughbred horses are bred and about 19,000 Thoroughbred horses are managed as racehorses. Every year, about 7,000 Thoroughbred foals are bred and trained as racehorses. During maximal exercise, the respiratory rate of a racehorse reaches about 150 breaths per minute, and the velocity of air flow through the upper airway is about 30 times higher than that at rest. Furthermore, the negative pressure into the upper airway during inhalation is very large. The structural or functional abnormalities of horses cause a poor performance due to prevention of air flow in the larynx. Recurrent laryngeal neuropathy (RLN) is one of the most common upper respiratory diseases in horses, and is one of the most difficult problems to overcome to be racehorses. In Japan, an upper respiratory disorder with respiratory noises in horses called "roaring" (Nodonari in Japanese) has been known for a long time, and the RLN is considered as a major cause of this disorder, however, the name "laryngeal hemiplegia" is widely used in equine clinical practice. Resting laryngeal endoscopy (laryngoscopy) has been widely used as a diagnostic tool for the RLN in horses, and currently, overground laryngoscopy is used as the golden standard for diagnosing upper airway diseases. In addition, the palpation of the Cricoarytenoideus dorsalis muscle (CAD) from the laryngeal surface to assess the degree of atrophy as a traditional method and ultrasonography of the Cricoarytenoideus lateralis muscle (CAL) are used for diagnostic tool of the RLN since 2006. Although the CAD is the only muscle for abduction of the corniculate process of arytenoid cartilage and has been recognized as an important muscle for RLN in horses, its anatomical location has made it difficult to approach the CAD from the transcutaneously for ultrasonographic evaluation.

In this study, I attempted to develop the external transcutaneous ultrasonographic imaging of the CAD that can be clinically applied as a diagnostic tool for equine RLN. Specifically, I considered a new ultrasonographic technique for imaging of the CAD by pushing from the contralateral side to the examination side, and examined possibility of the assessment in the atrophy and degeneration of the left cricoarytenoideus dorsalis muscle

(LCAD). First, in Chapter I, the situation of performing of the laryngoplasty (LP) for the equine RLN in Japan was confirmed as an ethiological research. Next, the transcutaneous ultrasonographic imaging technique of CAD in horses was devised using cadavers and in vivo in Chapter II, and the devised transcutaneous ultrasonographic technique was examined in horses with or without the RLN in Chapter III. Finally, in Chapter IV, the developed transcutaneous ultrasonographic imaging technique for the equine CAD was clinically applied to clinical cases.

In Chapter I, a multicenter survey on the implementation rate of the LP for the RLN in Thoroughbred racehorses/training horses was conducted to clarify the incidence of the equine RLN in Japan, which requires surgical resolve. The status of implementation of the LP for treatment of the RNL of Thoroughbred horses at five domestic referral equine hospitals over a six-year period from 2015 to 2020 was confirmed. The number of registered Thoroughbred studs and racehorses for each year was quoted from the Japan Association for International Racing and Stud Book, and the number of Thoroughbred horses produced (number of births) was quoted from equine-related data compiled by the Livestock Promotion Division, Livestock Department, Production Bureau, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries. The LP was applied to 89-119 horses per year in 606 Thoroughbred horses from 2 to 8 years of age, with the largest number of 2-year-olds (247 horses, 41.3%), followed by 3-year-olds (188 horses, 31.4%), with 2 to 3-year-olds accounting for about 70%. In the 2013 and 2014, the number of births was around 6,800, the number of registered pedigrees was around 6,650, and the number of registered racehorses was around 6,150. Thoroughbred horses born in these years and could be a race horse were about 90 %, and the LP implementation rates were 1.92% and 1.81%, respectively. In Japan, at least one out of every 60 Thoroughbred horses have been treated with the LP to eliminate poor performance due to the RLN, and the fact that the onset of the RLN is more common in 2-3 years old horses suggests that the laryngeal muscle degeneration and slightly insufficient abduction may potentially occur at an earlier stage. It was suggested that it is necessary to develop a screening method that can easily evaluate the laryngeal muscle degeneration in pre-training yearlings and early training horses without invasive to the horse.

In Chapter II, a transcutaneous ultrasonographic CAD imaging method that adds a simple maneuver, "compression of the larynx from the opposite side of the examination side" was devised in horses, and the ultrasonographic images of CAD was confirmed by using cadavers of Thoroughbred horses. In addition, the possibility of clinical application of the transcutaneous ultrasonography of the CAD in horses without upper respiratory noises was examined. The laryngeal ultrasound images were obtained from the dissected laryngeal material that submerged in water and compared with their cut surface images of the three cartilages (Thyroid cartilage; TC, Arytenoid cartilage; AC, and Cricoid cartilage; CC). The right and left CADs could be drawn in

both sagittal plane and cross-sectional plane images, and their shapes could be confirmed. The transcutaneous external longitudinal plane, which could be a landmark image of percutaneous laryngeal ultrasound in the living horse, was able to be imaged easily, and the three cartilages were able to be imaged with their characteristic shapes similar to the cadaver materials. Although it was necessary to continue compression from the contralateral side during ultrasonographic imaging of both sagittal plane and cross-sectional plane images using the dorsolateral approach in vivo, it could be performed safely without causing discomfort in the horse. In addition, the compression from the opposite side facilitated the approach from the dorsolateral side, and it was possible to image a clean overall view of the LCAD and the right CAD (RCAD) that was almost complete and considered worthy of diagnosis.

In Chapter III, ultrasonographic images of the LCAD and the RCAD using the transcutaneous ultrasound technique devised in Chapter II were compared in 30 horses without the RLN (control group) and 134 horses showing symptoms of the RLN (RLN group). In all horses, the resting laryngoscopy was performed under no sedation and with a nose twitch, and the transcutaneous laryngeal ultrasonography was performed under sedation with 5-7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ IV of medetomidine hydrochloride. In the resting endoscopy, the laryngeal grade was classified by the abduction of the left AC at the time of maximum abduction of the right AC, according to previously reports. The transcutaneous laryngeal ultrasonography was performed twice both the left and right larynx and the ultrasound image were assessed with regarding to thickness in sagittal plane, cross-sectional area in transverse image, number of pixels per unit, and echointensity. Furthermore, for confirmation of ultrasonographic accuracy, the thickness of the LCAD was directly measured during the LP as a physical thickness. With respect to the laryngeal grade in control horses, 20 of the 30 horses were grade 1, 9 were grade 2a, and 1 was grade 2b. In the RNL group, 2 of the 134 horses were grade 3a, 47 were grade 3b, 31 were grade 3c, and 54 were grade 4. In the control group, the thickness and cross-sectional area of the LCAD and the RCAD were around 9 mm and 2.5 cm^2 , respectively, and their L:R ratios were around 1.0. In the RLN group, the thickness and cross-sectional area of the CAD were around 7 mm and 1.8 cm^2 in the LCAD and around 10 mm and 2.7 cm^2 in the RCAD, respectively. In the RLN group, the CAD thickness and cross-sectional area were significantly small in the LCAD compared to those of the RCAD and the L: R ratio was around 0.7. In addition, in agreement with previous reports, the horses with the higher the resting laryngoscopy grade, the LCAD was the more strongly atrophied. Furthermore, an unprecedented new finding that compensatory hypertrophy of RCAD in horses with higher resting laryngeal endoscopy grade was obtained in this study. It was concluded that the transcutaneous laryngeal ultrasound technique is useful as one of the diagnostic tools for the RLN in horses.

In Chapter IV, the usefulness of the external transcutaneous laryngeal ultrasound technique was investigated in clinical cases of Thoroughbreds with upper respiratory disease diagnosed by the resting laryngoscopy. This study included 216 Thoroughbred horses with respiratory noises. All examinations were performed at Hokkaido South Agricultural Mutual Aid Association Mitsubishi Animal Medical Center between 2014 and 2021, and the external transcutaneous laryngeal ultrasound technique developed in this study was performed in addition to the resting laryngoscopy. In the resting laryngoscopy, 212 horses showed insufficient abduction of the left lateral AC corniculate process, and 4 horses showed insufficient abduction of the right lateral AC corniculate process. In the resting laryngoscopy grades, 9 of 212 horses were grade 3a, 65 were grade 3b, 62 were grade 3c, and 76 were grade 4. All 4 horses with right hemiplegia were grade 4. The transcutaneous laryngeal ultrasonography showed strong atrophy and hyperechogenicity of the LCAD in 198 (91.7%) of the 216 horses, which diagnosed left-sided RLN, and atrophy and degeneration of the RCAD in 2 (0.91%), which diagnosed right-sided RLN. Sixteen horses (7.4%) had some kinds of laryngeal cartilage abnormality, and 8 were diagnosed with dorsal spine of sagittal ridge of the CC (Ds) defects, 5 with arytenoid chondropathy (Ary Ch), 2 with 4th branchial arch defects (4-BAD), and 1 with muscular process of the AC (MPA) dysplasia. The left-sided LP was performed in 198 horses diagnosed as the left-sided RLN, and the right-sided LP was performed in 2 horses diagnosed as the right-sided RLN. The left-sided LP was performed in 8 horses diagnosed with the Ds defect and 1 horse diagnosed with the MPA dysplasia. However, horses with the MPA dysplasia could not be completed the LP. The two horses diagnosed as the 4-BAD were kept under observation. It was concluded that the diagnostic accuracy of upper respiratory tract diseases in horses can be further improved by simultaneously obtaining the laryngeal movement and its structure of laryngeal cartilages by combining resting laryngoscopy with the transcutaneous laryngeal ultrasound technique.

The external transcutaneous laryngeal ultrasound technique developed in this study was a simple and logical method using compression from the opposite side and moving it for imaging the CAD located in the mid-larynx. This creative method could be overturned the idea which considered limited due to anatomical location among west veterinarians, which are advanced countries in equine clinical practice. The fact that this is a non-invasive technique is also really usefull and significant, and it is believed that the application of this technique has the potential to expand into the future for early diagnosis of the RLN and evaluation of the laryngeal cartilage. This study established the external percutaneous ultrasonic CAD visualization method as a new diagnostic tool for upper airway disease in horses.