

犬の膝蓋骨内方脱臼において生じる骨変形と病態の解析

日本大学大学院獣医学研究科獣医学専攻  
博士課程

安川 慎二

2015

# 目次

	頁
序.....	1
第一章 わが国における犬の膝蓋骨内方脱臼についての疫学的調査.....	5
1.1. 緒言.....	6
1.2. 材料および方法.....	8
1.2.1. 調査対象	
1.2.2. 診断方法	
1.2.3. 検討項目	
1.2.4. 統計学的解析	
1.3. 結果.....	11
1.4. 考察.....	22
第二章 コンピューター断層撮影 (CT) を用いた膝蓋骨内方脱臼における 骨変形の評価.....	26
2.1. 緒言.....	27
2.2. 材料および方法.....	29
2.2.1. 評価対象	
2.2.2. CT 撮影	
2.2.3. 基準線の設定および測定用画像の作成	

2.2.4. 測定項目	
2.2.4.1. 大腿骨	
2.2.4.2. 脛骨	
2.2.4.3. 膝蓋骨	
2.2.5. 統計学的解析	
2.3. 結果.....	43
2.3.1. 評価対象	
2.3.2. 大腿骨	
2.3.3. 脛骨	
2.3.4. 膝蓋骨	
2.4. 考察.....	55
第三章 病理学のおよび分子生物学的手法を用いた膝蓋骨内方脱臼の	
病態メカニズムの解析.....	61
3.1. 緒言.....	62
3.2. 材料および方法.....	64
3.2.1. 対象症例	
3.2.2. 超音波検査	
3.2.3. 病理組織学的検査	
3.2.4. 分子生物学的検査	
3.2.4.1. Total RNA の抽出	
3.2.4.2. マイクロアレイによる遺伝子発現解析	

3. 2. 4. 3. 発現変動遺伝子の抽出	
3. 2. 4. 4. Real time PCR	
3. 2. 4. 5. 統計学的解析	
3. 3. 結果.....	69
3. 3. 1. 対象症例	
3. 3. 2. 超音波検査	
3. 3. 3. 病理組織学的検査	
3. 3. 4. マイクロアレイ	
3. 3. 5. Real time PCR	
3. 4. 考察.....	83
総括.....	88
謝辞.....	93
引用文献.....	94



# 序

膝蓋骨は、犬の体内で最大の種子骨であり、その形態は卵円形で大腿骨の滑車溝と関節するために湾曲している (Miller, 1980)。膝蓋骨は、大腿直筋、外側広筋、内側広筋、中間広筋からなる大腿四頭筋、膝蓋靭帯、脛骨稜とともに膝関節の伸展機構を構成している (Piermattei *et al.*, 2006)。膝蓋骨の主要な役割は、大腿四頭筋群の牽引方向を変えることである。また、膝蓋骨は大腿骨の滑車溝との間により大きな軸受け面を提供することで、関節面に加わる負荷を分散し、膝蓋靭帯にかかる負荷を軽減している (Miller, 1980)。

膝蓋骨脱臼は、膝蓋骨が大腿骨の滑車溝から変位する疾患と定義されており、犬において最も遭遇する機会の多い整形外科疾患のひとつである (Schulz, 2002; Vasseur *et al.*, 2003; Piermattei *et al.*, 2006)。膝蓋骨脱臼は、脱臼の方向から内方脱臼、外方脱臼、上方脱臼に分類されている (Vasseur *et al.*, 2003)。これらの膝蓋骨脱臼のうち、最も多く認められるのは、膝蓋骨内方脱臼 (medial patellar luxation: MPL) である (Piermattei *et al.*, 2006)。

犬の MPL は、出生時あるいは幼少期に外傷歴がなくても膝蓋骨の脱臼が生じていることが多いことから、先天性の要因が示唆されている (Piermattei *et al.*, 2006)。また、MPL は、ポメラニアン、ヨークシャー・テリア、トイ・プードル、チワワ、パピヨン、マルチーズといった一定の小型犬種に好発し、さらに両側同時に発生することが多いことから、遺伝性疾患の可能性も指摘されている (Hodgman, 1963; Priester, 1972; Hayes *et al.*, 1994; LaFond *et al.*, 2002; Piermattei *et al.*, 2006; Alam *et al.*, 2007; Swiderski *et al.*, 2007)。MPL による臨床症状は、後肢の間欠的跛行から急性の非負重性跛行まで様々であり、重症例では大腿骨や脛骨に変形が生じ、重度な機能障害を引き起こす (Schulz, 2002; Vasseur *et al.*, 2003;

Piermattei *et al.*, 2006)。

MPL の原因として、内反股や骨頸部の前捻といった大腿骨の形態異常が関与していると多くの成書に記載されている (Singleton, 1969; Campbell & Pond, 1972; Hulse, 1981; Roush, 1993; Kaiser *et al.*, 2001; Piermattei *et al.*, 2006)。しかし、過去の報告において、これらの骨形態の異常に関しては、統一された見解は得られていない。重度な MPL の症例では、大腿骨、脛骨、膝蓋骨に複合的な骨変形を生じることが知られているが (Hulse, 1981; Schulz, 2002; Piermattei *et al.*, 2006)、過去に MPL における骨変形の評価を行った報告のほとんどは、単一の骨のみに焦点を当てている。また、骨形態には正常犬においても犬種間に解剖学的な差異が存在するにも関わらず (Fitzpatrick *et al.*, 2012; Soparat *et al.*, 2012)、これまでの報告の多くは評価対象となる犬種が統一されていない。このように、過去の MPL における骨変形の評価を行った報告において、同一犬種および同一個体内で複数の骨の変形を同時に評価した報告は存在しない。

その一方で、膝関節を構成する大腿四頭筋などの周辺筋肉の異常が膝蓋骨の脱臼を引き起こし、それに伴って骨変形が生じるという理論も存在している (Nagaoka *et al.*, 1995)。しかし、我々の知る限り、MPL の症例において大腿四頭筋を含む軟部組織の異常に着目し、その発生機序の解明を試みた報告は未だ存在しない。

そこで、本研究では、わが国における MPL の発生状況を調査するために大規模な疫学的調査を実施し、MPL の病態解析に適切な犬種を特定した。次いで、MPL によって生じる骨変形について、大腿骨、脛骨、膝蓋骨を包括的に評価し、それらの骨変形と重症度および脱臼機序との関係について検討を行った。さら

に、未だ明らかにされていない MPL における周辺筋肉の変化について、病理学  
的および分子生物学的に解析を行い MPL の病因を追求した。

## 第一章

# わが国における犬の膝蓋骨内方脱臼についての 疫学的調査

## 1.1. 緒言

膝蓋骨内方脱臼 (MPL) に関する疫学的調査は、これまでに様々な国から報告されている。Hodgman らは、MPL に罹患した 616 頭の犬を評価し、トイ・プードル、ヨークシャー・テリア、ケアン・テリア、チワワ、ポメラニアンが好発犬種であったと報告している (Hodgman, 1963)。Lafond らは 4,419 頭の犬を対象に検討を行い、前述した好発犬種に加え、アメリカン・コッカー・スパニエル、ボストン・テリア、ブルドッグ、チャイニーズ・シャー・ペイに MPL が好発していたと報告している (LaFond *et al.*, 2002)。Alam らは、134 頭の犬を対象として詳細な疫学的調査を実施し、膝蓋骨脱臼は内方脱臼が外方脱臼に比べて有意に多く、3 歳未満の犬に好発し、両側性の発生が全体の約半数を占めたと報告している (Alam *et al.*, 2007)。しかし、これら過去の報告の多くは大学病院などの二次診療施設を中心に実施されたものであり、その母集団には外科治療の適応となる重症例が潜在的に多く含まれているため、MPL の罹患率に偏りがある可能性がある。したがって、これらの報告は疫学的調査を実施した国における犬の MPL の罹患状況を正確に反映していない可能性がある。

MPL に関するわが国での疫学的調査は、1996 年に桐原らによって報告されている (桐原ら, 1996)。その報告では、超小型犬および小型犬 419 頭のうち 212 頭 (50.6%) に MPL が認められ、両側性の MPL は片側性の MPL よりも多かった。また、MPL 罹患症例におけるグレードの内訳は、グレード 1 が 32.7%、グレード 2 が 46.7%、グレード 3 が 18.4%、グレード 4 が 2.2%であった。しかし、最近の犬の飼育頭数を反映したわが国における MPL の大規模な疫学的調査は行われていない。そこで、本章ではわが国で飼育されている犬の MPL の発生状況

を把握するために、一次診療施設を受診した犬を対象に大規模な疫学的調査を実施した。

## 1.2. 材料および方法

### 1.2.1. 調査対象

本検討は、2004年8月から2015年7月にワクチン接種や健康診断を含む様々な主訴を理由に関東近郊の一次診療施設（大宮スマイル動物病院、かつまペットクリニック、ガレン動物病院、川畑動物病院、木俣動物病院、鈴木犬猫病院、高野動物病院、ぬのかわ犬猫病院、兵藤動物病院、マーレ動物クリニック）に来院した犬を対象とし調査を行った。

### 1.2.2. 診断方法

MPL の診断は、立位姿勢での触診にて行い、MPL が認められた場合には、Singleton のグレード分類に基づき、グレード 1 から 4 に分類した（表 1-1）（Singleton, 1969）。

### 1.2.3. 検討項目

診療記録より、犬種、性別（去勢や不妊の有無）、診断時の年齢および体重、罹患側、グレードの内訳について回顧的に調査を行った。また、飼い主が MPL の臨床症状を認識できた割合を重症度ごとに算出した。さらに、両側性に MPL が認められた場合には、左右の重症度の差についても検討を行った。

### 1.2.4. 統計学的解析

本検討における測定結果は、平均値±標準偏差(SD)で算出した。統計解析には、統計処理ソフト(GraphPad Prism version 6.0 for Macintosh, GraphPad Software Inc.,



San Diego, USA) を使用した。犬種、性別、罹患側、グレードの内訳については  $\chi^2$  独立検定を、診断時の年齢と体重については Mann-Whitney  $U$  検定を行った。また、MPL の罹患犬種に関しては、オッズ比と 95%信頼区間を用いて好発犬種を算出した。 $P < 0.05$  をもって有意差ありと判定した。

表 1-1 Singleton のグレード分類

重症度	触診所見
グレード1	膝蓋骨を用手にて脱臼させることが可能だが、手を離せば正常位に整復される。
グレード2	膝関節の屈伸に伴って膝蓋骨が容易に脱臼し、自然に正常位に整復される。
グレード3	膝蓋骨は常時脱臼したままであるが、用手で整復することが可能である。
グレード4	膝蓋骨は常時脱臼したままで、用手での整復も不可能である。

### 1.3. 結果

調査期間中に、本検討に該当した症例は 2,770 頭、合計 5,540 肢であった。犬種は、トイ・プードルが 451 頭、ミニチュア・ダックスフンドが 365 頭、チワワが 328 頭、柴犬が 128 頭、ポメラニアンが 116 頭、シー・ズーが 111 頭、ヨークシャー・テリアが 95 頭、パピヨンが 88 頭、マルチーズが 67 頭、ミニチュア・シュナウザーが 65 頭、キャバリア・キングチャールズ・スパニエルが 59 頭、フレンチ・ブルドッグが 49 頭、ウエルシュ・コーギーが 47 頭、ゴールデン・レトリバーが 43 頭、パグが 35 頭、ジャック・ラッセル・テリアが 33 頭、アメリカン・コッカー・スパニエル、ミニチュア・ピンシャーが各々 28 頭、シェットランド・シープ・ドッグが 27 頭、ラブラドル・レトリバーが 26 頭、ビーグルが 24 頭、ボーダー・コリーが 23 頭、イタリアン・グレイハウンド、カニンヘン・ダックスフンド、ペキニーズが各々 21 頭、スピッツが 14 頭、ビション・フリーゼが 11 頭であり、それ以外の犬種は各々 10 頭以下であった(表 1-2)。調査対象の犬の年齢は、0 ヶ月齢から 18 歳齢で平均  $3.6 \pm 4.6$  歳齢(中央値 1.0 歳齢)であった。それらの犬の性別は、雄が 1,473 頭(未去勢: 1,028 頭、去勢済: 445 頭)、雌が 1,297 頭(未不妊: 868 頭、不妊済: 429 頭)であり、体重は 0.23kg から 45.5kg で平均  $4.0 \pm 4.9$ kg(中央値 2.7kg)であった。

MPL は、調査対象全体の 19.2% (533/2,770 頭) の犬で認められた。MPL と診断された犬種は、トイ・プードルが 130 頭 (24.4%、オッズ比: 1.9)、チワワが 96 頭 (18.0%、オッズ比: 1.9)、ミニチュア・ダックスフンドが 45 頭 (8.4%、オッズ比: 0.6)、ヨークシャー・テリアが 40 頭 (7.5%、オッズ比: 3.2)、ポメラニアンが 39 頭 (7.3%、オッズ比: 2.2)、パピヨンが 25 頭 (4.7%、オッズ比:

1.7)、マルチーズが 20 頭 (3.8%、オッズ比 : 1.8)、柴犬が 18 頭 (3.4%、オッズ比 : 0.7)、ミニチュア・シュナウザーが 11 頭 (2.1%、オッズ比 : 0.4)、それ以外の犬種は各々 10 頭以下であった (表 1-3)。MPL の発生率は、トイ・プードル、チワワ、ヨークシャー・テリア、ポメラニアン、パピヨン、マルチーズで有意に高かった。

MPL が認められた犬の性別は、雄が 256 頭 (未去勢 126 頭・去勢済 130 頭)、雌が 277 頭 (未不妊 152 頭・不妊済 125 頭) であり、MPL は雌で有意に多く発生していた。

MPL 罹患犬の診断時の年齢は、0 ヶ月齢から 18 歳齢で平均  $4.9 \pm 4.4$  歳齢 (中央値 4.0 歳齢) で、3 歳未満の症例が約 40% を占め、大多数が成長期に好発していた (図 1-1)。

MPL 罹患犬の診断時の体重は、0.37kg から 32.1kg で平均  $3.7 \pm 2.8$ kg (中央値 3.3kg) であった。また、体重別の MPL の罹患率は、体重 10kg 未満が 20.1% (521/2,587 頭)、10~20kg が 8.7% (11/127 頭)、20kg 以上が 1.8% (1/56 頭) であった。体重 10kg 未満の小型犬では、MPL の罹患率が有意に高く、MPL に罹患するリスクが 3.6 倍高かった (表 1-4)。

調査対象全体において、両側性の MPL が 342 頭で認められ、その割合は 12.3% であった。その一方で、片側性の MPL は 191 頭で認められ、その割合は 6.9% であった。MPL 罹患犬の中では、64.2% が両側性であり、両側性の MPL の発生が有意に多かった (図 1-2)。

調査対象全体に対する MPL の各グレードの罹患率を延べ頭数で換算したところ、グレード 1 が 10.9% (301/612 頭)、グレード 2 が 7.8% (217/612 頭)、グレ

ード3が3.1% (86/612頭)、グレード4が0.3% (8/612頭)であった。MPL罹患犬における各グレードの占める割合は、グレード1が51.0% (446/875肢)と最も多く、次いでグレード2が35.1% (307/875肢)と、両グレードで85%以上を占めていた。さらに、グレード3が12.9% (113/875肢)、グレード4が1.0% (9/875肢)と、グレードが高くなるにつれて罹患率が低くなる傾向が認められた (図 1-3)。

飼い主がMPLによる臨床症状を認識できた割合は、グレード1で2.3%、グレード2で13.8%、グレード3で18.6%、グレード4で50.0%とグレードが高くなるにつれて増加する傾向が認められた (表 1-5)。

両側性のMPLが認められた症例において、左右のMPLの重症度を比較したところ、各々のグレードが同じかグレードの差が1つ以内の症例が90%以上を占めていた (表 1-6)。

表 1-2 調査対象全体の犬種の内訳

犬種	n
トイ・プードル	451
ミニチュア・ダックスフンド	365
チワワ	328
柴犬	128
ポメラニアン	116
シー・ズー	111
ヨークシャー・テリア	95
パピヨン	88
マルチーズ	67
ミニチュア・シュナウザー	65
キャバリア・キングチャールズ・スパニエル	59
フレンチ・ブルドッグ	49
ウエルシュ・コーギー	47
ゴールデン・レトリバー	43
パグ	35
ジャック・ラッセル・テリア	33
アメリカン・コッカー・スパニエル、ミニチュア・ピンシャー	28
シェットランド・シープ・ドッグ	27
ラブラドル・レトリバー	26
ビーグル	24
ボーダー・コリー	23
イタリアン・グレイハウンド、カニンヘン・ダックスフンド、ペキニーズ	21
スピッツ	14
ビション・フリーゼ	11
ウエスト・ハイランド・ホワイト・テリア	9
バーニーズ・マウンテン・ドッグ	8
シベリアン・ハスキー、ブルドッグ、ボストン・テリア	7
イングリッシュ・コッカー・スパニエル、狆	6
スタンダード・プードル	5
その他	64
ウイペット、甲斐犬、ジャーマン・シェパード、スコッチ・テリア、ボルゾイ、ワイマラナー (各 n=4)	
紀州犬、ケアン・テリア、ドーベルマン・ピンシャー、ワイヤーヘアード・フォックス・テリア (各 n=3)	
グレート・ピレニーズ、チャイニーズ・クレストッド・ドッグ、フラットコーテッド・レトリバー、北海道犬、ラサ・アプソ (各 n=2)	
秋田犬、アメリカン・スタッフォードシャー・テリア、アメリカン・ビーグル、アメリカン・ピットブル、オーストラリアン・シェパード、クランパー・スパニエル、ゴールデン・ドゥードゥル、コットン・ド・テュレアル、サモエド、スタンダード・ダックスフンド、ダルメシアン、日本テリア、ニューファンドランド、ノーフォーク・テリア、バセンジー、ハバニーズ、ベルジアン・ターピュレン、ホワイトシェパード (各 n=1)	
雑種	327
計	2,770

表 1-3 膝蓋骨内方脱臼が認められた犬種の内訳

犬種	n	MPL 症例 の内訳	犬種毎の 発生率	オッズ比	95%信頼区間	
トイ・プードル	130	24.4%	28.8%	1.9	1.529 - 2.424	†
チワワ	96	18.0%	29.3%	1.9	1.465 - 2.461	†
ミニチュア・ダックスフンド	45	8.4%	12.3%	0.6	0.398 - 0.767	
ヨークシャー・テリア	40	7.5%	42.1%	3.2	2.117 - 4.894	†
ポメラニアン	39	7.3%	33.6%	2.2	1.488 - 3.296	†
パピヨン	25	4.7%	28.4%	1.7	1.058 - 2.726	†
マルチーズ	20	3.8%	29.9%	1.8	1.080 - 3.131	†
柴犬	18	3.4%	14.1%	0.7	0.407 - 1.123	
ミニチュア・シュナウザー	11	2.1%	16.9%	0.4	0.442 - 1.641	
キャバリア・キングチャールズ・スパニエル	10	1.9%	16.9%	0.9	0.430 - 1.697	
シー・ズー	9	1.7%	8.1%	-	-	
ミニチュア・ピンシャー	6	1.1%	21.4%	-	-	
ジャック・ラッセル・テリア	5	0.9%	15.2%	-	-	
アメリカン・コッカー・スパニエル	4	0.8%	14.3%	-	-	
ビーグル	4	0.8%	16.7%	-	-	
スピッツ	4	0.8%	28.6%	-	-	
フレンチ・ブルドッグ	3	0.6%	6.1%	-	-	
ウエルシュ・コーギー	3	0.6%	6.4%	-	-	
パグ	3	0.6%	8.6%	-	-	
ビション・フリーゼ	3	0.6%	27.3%	-	-	
ボストン・テリア	3	0.6%	42.9%	-	-	
ラブラドル・レトリバー	2	0.4%	7.7%	-	-	
カニンヘン・ダックスフンド	3	0.6%	14.3%	-	-	
ボーダー・コリー	1	0.2%	4.3%	-	-	
イタリアン・グレイハウンド	2	0.4%	9.5%	-	-	
ペキニーズ	1	0.2%	4.8%	-	-	
ウエスト・ハイランド・ホワイト・テリア	1	0.2%	11.1%	-	-	
ウイペット	1	0.2%	25.0%	-	-	
ケアン・テリア	1	0.2%	33.3%	-	-	
フラットコート・レトリバー	1	0.2%	50.0%	-	-	
スタンダード・ダックスフンド	1	0.2%	100.0%	-	-	
雑種	38	7.1%	-	-	-	
計	533					

†: 統計学的に有意差あり ( $P < 0.05$ )

表 1-4 体重別の膝蓋骨内方脱臼の罹患率

体重	MPL 罹患率	オッズ比	95%信頼区間	
<10kg	20.1% (521/2,587 頭)	3.6	1.985-6.504	†
10~20kg	8.7% (11/127 頭)	0.4	0.206-0.721	††
>20kg	1.8% (1/56 頭)	-	-	

†：統計学的に有意に高値 ( $P < 0.05$ )、††：統計学的に有意に低値 ( $P < 0.05$ )



表 1-5 飼い主が膝蓋骨内方脱臼による臨床症状を認識できた割合

	臨床症状あり	臨床症状なし	不明
グレード1	2.3% (7/301 頭)	67.1% (202/301 頭)	30.6% (92/301 頭)
グレード2	13.8% (30/217 頭)	79.3% (172/217 頭)	6.9% (15/217 頭)
グレード3	18.6% (16/86 頭)	77.9% (67/86 頭)	3.5% (3/86 頭)
グレード4	50.0% (4/8 頭)	50.0% (4/8 頭)	0.0% (0/8 頭)

表 1-6 膝蓋骨内方脱臼に罹患していた犬における重症度の左右差

	対側肢の MPL 重症度					
	同グレード	+1	+2	+3	+4	外方脱臼
正常	-	61.7% (116/188 頭)	30.9% (58/188 頭)	6.4% (12/188 頭)	1.1% (2/188 頭)	0.0% (0/188 頭)
グレード 1	78.4% (145/185 頭)	17.3% (32/185 頭)	3.8% (7/185 頭)	0.0% (0/185 頭)	-	0.5% (1/185 頭)
グレード 2	72.2% (91/126 頭)	27.0% (34/126 頭)	0.8% (1/126 頭)	-	-	0.0% (0/126 頭)
グレード 3	81.8% (27/33 頭)	12.1% (4/33 頭)	-	-	-	6.1% (2/33 頭)
グレード 4	100.0% (1/1 頭)	-	-	-	-	0.0% (0/1 頭)

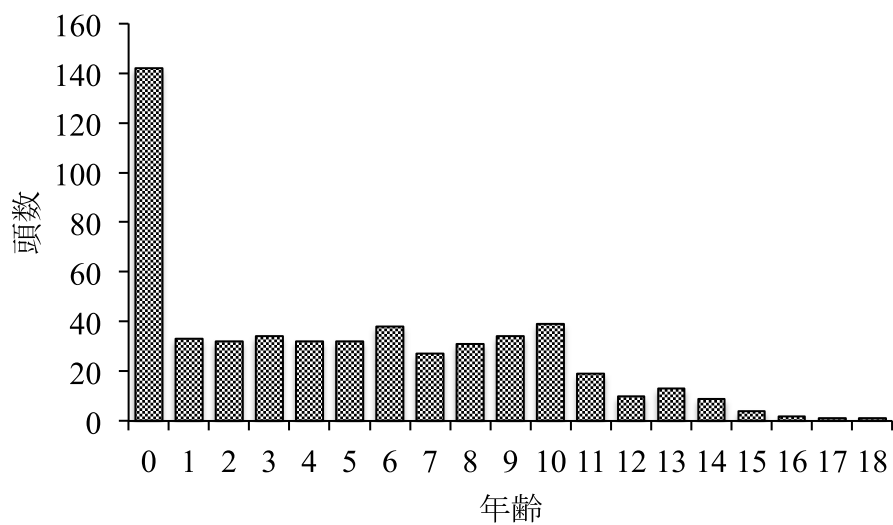


図 1-1 膝蓋骨内方脱臼に罹患した犬の診断時の年齢  
 MPL罹患犬の診断時の年齢は、3歳未満の症例が全体の約40%を占め、  
 大多数が成長期に好発していた。

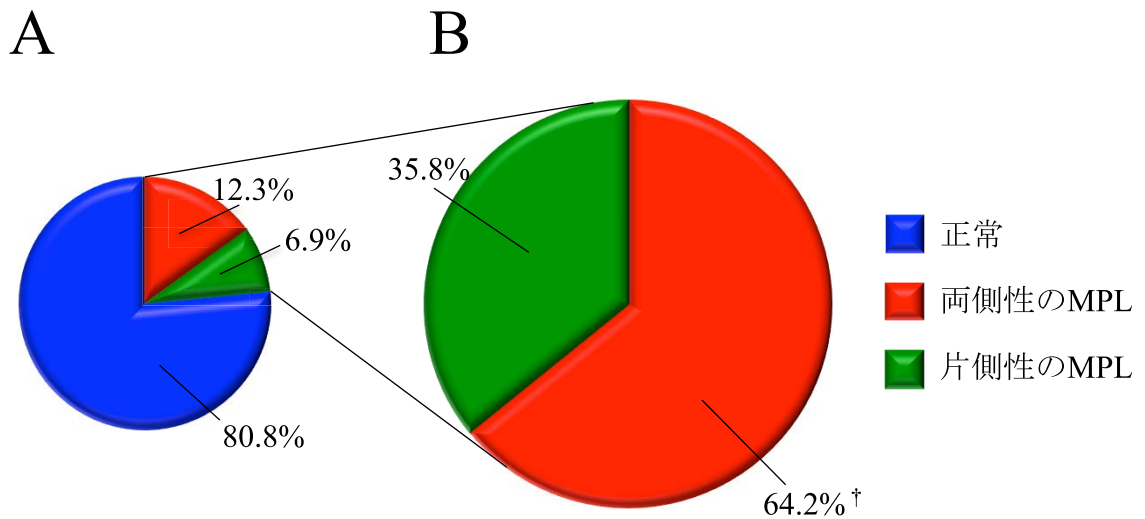


図 1-2 膝蓋骨内方脱臼の罹患側

A : 調査対象全体における膝蓋骨内方脱臼の罹患側の内訳

両側性のMPLは342頭 (12.3%) で認められ、片側性のMPLは191頭 (6.9%) であった。

B : 膝蓋骨内方脱臼に罹患していた犬の罹患側の内訳

MPL罹患犬の中では、両側性が64.2%であり、両側性のMPLの発生が有意に多かった。† : 統計学的な有意差あり ( $P < 0.05$ ) 。

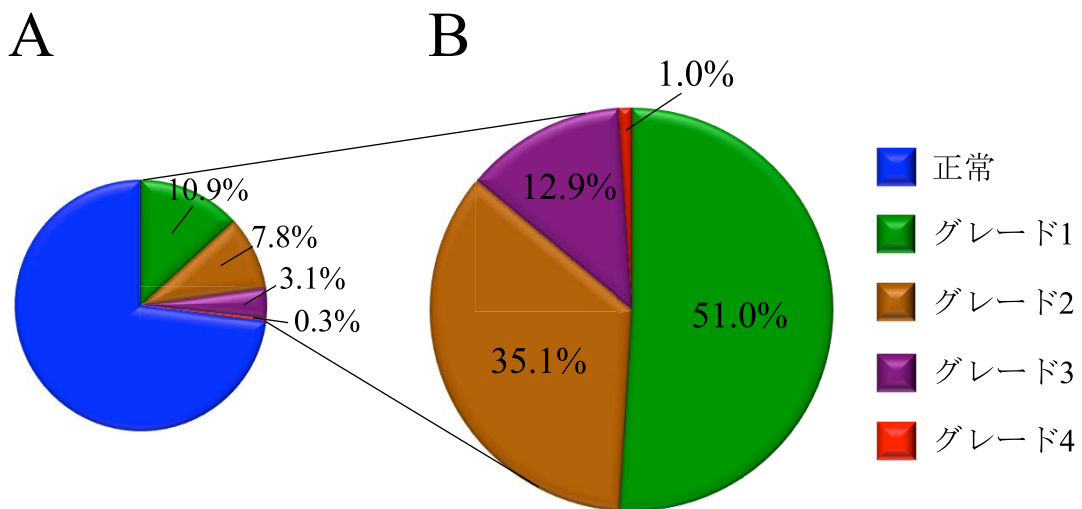


図 1-3 膝蓋骨内方脱臼の重症度

A：調査対象全体に対するMPLの各グレードの罹患率の内訳

罹患率は、グレード1が10.9% (301/612頭)、グレード2が7.8% (217/612頭)、グレード3が3.1% (86/612頭)、グレード4が0.3% (8/612頭)であった。

B：膝蓋骨内方脱臼に罹患していた犬の各グレードの罹患率の内訳

グレード1が51.0% (446/875肢)と最も多く、次いでグレード2が35.1% (307/875肢)と、両グレードで85%以上を占めていた。さらに、グレード3が12.9% (113/875肢)、グレード4が1.0% (9/875肢)と、グレードが高くなるにつれて罹患率が低くなる傾向が認められた。

#### 1.4. 考察

本検討の結果、わが国における MPL の罹患率は 19.2% (533/2,770 頭) であった。犬種は、トイ・プードル、チワワ、ヨークシャー・テリア、ポメラニアン、パピヨン、マルチーズにおいて MPL の罹患率が有意に高かった。両側性の MPL が片側性に比べて有意に多く、MPL の重症度はグレード 1 と 2 が全体の 85%以上を占めていた。

本検討では、わが国における MPL のより正確な罹患状況を把握するために大規模な疫学的調査を実施した。特定疾患の罹患率を調査する場合、調査対象が疾患と無関係に抽出され、また特定地域の犬種別の飼育頭数を代表している必要がある。本検討では、ワクチン接種や健康診断など様々な主訴を理由に一次診療施設を受診した犬を対象とし、関東近郊の複数の地域にてデータの収集を行った。

過去の報告において、MPL の好発犬種としては、ポメラニアン、トイ・プードル、ヨークシャー・テリア、チワワが最も多く報告されている (Hodgman, 1963; Priester, 1972; LaFond *et al.*, 2002; Alam *et al.*, 2007)。本検討においてもトイ・プードル、チワワ、ヨークシャー・テリア、ポメラニアンの MPL の罹患率およびオッズ比が高く、過去の報告に一致していた。ミニチュア・ダックスフンドは MPL の罹患数は多かったが、罹患率とオッズ比はともに低かった (表 1-3)。その一方で、ミニチュア・ダックスフンドの 77.1% (74/96 頭、オッズ比 : 27.5) において膝蓋骨外方脱臼 (Lateral patellar luxation ; LPL) が認められた。

本検討では、MPL と診断された犬の性別は雌の方が有意に多く、雌が MPL に罹患するリスクは雄の 1.3 倍高かった。これらの結果は、小型犬種における MPL の発生は雌に多いという過去の報告に一致していた (Priester, 1972; Denny &

Minter, 1973; Hayes *et al.*, 1994; Alam *et al.*, 2007)。その一方で、大型犬種では MPL の発生は雄に多いという報告もあり (Remedios *et al.*, 1992; Gibbons *et al.*, 2006)、MPL と性別との関係について結論付けるためにはさらなる検討が必要である。

MPL 罹患犬の診断時の年齢は、平均  $4.9 \pm 4.4$  歳齡(中央値 4.0 歳齡)で、3 歳未満の症例が MPL 罹患犬の約 40%を占めていた(図 1-1)。Alam らは、MPL 罹患犬における 3 歳未満の犬の割合は 57%と報告しており、本検討の結果と類似していた (Alam *et al.*, 2007)。また、本検討では MPL と診断した犬のほとんどが成長期であった。これらの結果から、MPL は成長期に診断されることが多い疾患であることが再確認され、これは MPL が先天性疾患である可能性を支持するものであった。

MPL 罹患犬の診断時の平均体重は、平均  $3.7 \pm 2.8$ kg(中央値 3.3kg)であり、小型犬種に多い傾向がみられた。本検討では、小型犬種(体重 10kg 未満)が MPL に罹患するリスクは 3.6 倍高く、過去の報告にほぼ一致していた (Priester, 1972) (表 1-4)。

両側性の MPL の割合は、MPL 罹患犬全体の 64.2%を占めており、片側性に比較して有意に多かった。過去の報告においても、両側性の MPL の割合が MPL 罹患犬全体の約 40%であったと報告されており、本検討の結果もこれらの報告に類似していた (Kodituwakku, 1962; Denny & Minter, 1973)。

本検討における MPL 罹患犬での各グレードの割合は、グレード 1 が 51.0%、グレード 2 が 35.1%、グレード 3 が 12.9%、グレード 4 が 1.0%とグレードが高くなるにつれて罹患率が低くなる傾向がみられた(図 1-3)。その一方で、飼い主が MPL による臨床症状を認識できた割合は、グレードが高くなるにつれて増加す

る傾向がみられた（表 1-5）。Alam らの報告では、134 頭の膝蓋骨脱臼に罹患した犬の重症度は、グレード 1 が 18%、グレード 2 が 27%、グレード 3 が 47%、グレード 4 が 8%であった（Alam *et al.*, 2007）。Alam らの報告は、大学病院を受診した犬を対象としているため、臨床症状を呈することの多いグレード 3 や 4 の症例数が多く、グレード 1 や 2 の症例数が少なかった可能性がある。そのため、一次診療施設を受診した症例を用いて大規模な疫学的調査を行った本検討の結果は、わが国における MPL の発生状況をより正確に反映していたと考えられる。また、本検討における疫学的調査の結果、MPL の罹患率は重症度が高くなるにつれて減少し、一方で臨床症状は重症度が高くなるにつれて明瞭化することが確認された。

本検討では、両側性の MPL の場合、両側のグレードが同じか、グレードの差が 1 つ以内の症例が 90%以上を占めていた（表 1-6）。これらの結果より、一方の MPL の重症度が軽度である場合には、もう一方も軽度であることが多く、同様に一方の MPL の重症度が重度である場合には、もう一方も重度であることが多いことが明らかとなった。MPL が両側性に発生することが多いことは知られているが（Kodituwakku, 1962; Denny & Minter, 1973）、我々の知る限り、MPL の重症度の左右差について検討した報告はこれまでに存在しない。本検討の結果から日常診療で MPL を診断する際のきわめて重要な情報を得ることができた。

本検討では、ワクチン接種や健康診断など様々な主訴で一次診療施設を受診した犬を対象に疫学的調査を行ったが、動物病院を受診した時点で何らかの疾患に罹患していた可能性がある。さらに正確な MPL の疫学を調べるためには、特定地域の犬を無作為に選択して検討を行うことが望ましい。

本検討の結果から、わが国で飼育されている犬の 5 頭に 1 頭が MPL に罹患し



ている可能性が示唆された。これは、わが国の犬が罹患している最も多い疾患と  
いっても過言ではなく、その重要性が再認識された。また、わが国における、MPL  
の好発犬種は、トイ・プードル、チワワ、ヨークシャー・テリア、ポメラニアン  
であることが明らかになり、他国の疫学的情報とほとんど一致していた。特に、  
トイ・プードルは MPL の罹患率とオッズ比がともに高かったことから、骨形態  
や病態の解析に最も臨床的価値の高い犬種であることが示された。

## 第二章

コンピューター断層撮影（CT）を用いた  
膝蓋骨内方脱臼における骨変形の評価

## 2.1. 緒言

膝蓋骨内方脱臼 (MPL) の症例では、脱臼の重症度に応じて、大腿骨や脛骨に様々な程度の骨変形が生じる (Singleton, 1969; Hulse, 1981; Roush, 1993; Schulz, 2002; Vasseur *et al.*, 2003; Piermattei *et al.*, 2006)。これまでの報告では、MPLに関連する骨変形として、内反股、大腿骨遠位の外方捻転、大腿骨遠位 3 分の 1 の内反変形、滑車溝の低形成と内側稜の発達不良あるいは欠損、大腿骨内側顆の低形成、脛骨近位の内旋を伴う脛骨稜の内方変位、脛骨近位の外反変形が挙げられている (Hulse, 1981; Schulz, 2002; Piermattei *et al.*, 2006)。このような骨変形の評価には、従来から X 線画像が用いられてきた。単純 X 線検査は、小動物臨床において最も一般的な検査のひとつであるが、三次元の骨形態を二次元の画像でしか評価できず、またその測定値は撮影ポジションに大きく影響を受ける。さらに、重度の骨変形を有する症例においては測定不能な項目が存在するため、X 線画像を用いて骨形態を正確に把握するには限界がある (Mortari *et al.*, 2009)。一方として、コンピューター断層撮影 (Computed tomography : CT) は、骨形態を三次元で評価可能であり、MPL に伴う骨変形をより正確に評価するには最適である。

過去の MPL に伴う骨変形に関する報告のほとんどは、骨形態の評価に X 線画像が用いられている。しかし、X 線画像を用いて MPL に伴う骨変形を評価した過去の報告では、大腿骨のみを評価したものが多く、既知の測定項目を網羅的に評価した報告はない (Bruecker, 2006; Persuki *et al.*, 2006 Swiderski *et al.*, 2007; Roch & Gemmill, 2008; Mortari *et al.*, 2009; Soparat *et al.*, 2012)。また、重度な MPL の症例では大腿骨、脛骨、膝蓋骨に複合的な骨変形が生じるにも関わらず、X 線画像を用いて大腿骨と脛骨を同時に評価した報告は少ない (Bound *et al.*, 2009)。さら

に、重度な MPL では、これらの骨が重度に変形しているために骨形態の計測に適切なポジションでの X 線画像を得ることが困難であり、過去の報告ではいずれもグレード 4 の症例を対象とした研究は存在しない。このような X 線画像を用いて MPL における骨変形を評価した過去の報告の多くは、犬種間に解剖学的な差異があるにも関わらず、複数の犬種を対象として検討がなされており、単一犬種のみを対象とした報告は 1 報しかない (Soparat *et al.*, 2012)。近年では、小動物臨床領域においても CT が普及するようになり、MPL に伴う骨変形をより正確に評価できるようになってきている (Towle *et al.*, 2005; Fitzpatrick *et al.*, 2012; Barnes *et al.*, 2015)。しかし、CT を用いた検討においても、犬種を統一して複数の骨を同時に評価した報告は存在しない。さらに、我々の知る限り、グレード 4 の症例の骨形態を評価した報告は CT を用いた検討においても存在しない。したがって、これまでの問題点を解決するためには、同一犬種のみを用いてグレード 4 の MPL を含む症例を対象とし、同一個体内で同時に複数の骨を三次元で包括的に評価する必要がある。このような検討を行うことは、MPL の病態をより詳細に把握できるだけでなく、外科的治療方針の決定にも役立つことが期待される。

そこで、本章では第一章の結果に基づき、わが国で MPL の罹患数が最も多いトイ・プードルを対象に、全てのグレードにおいて生じる、大腿骨、脛骨、膝蓋骨の変形の程度について、既報の測定項目を CT を用いて三次元で包括的に評価し、それらの骨変形と重症度との関係について検討を行った。

## 2.2. 材料および方法

### 2.2.1. 評価対象

本検討は、2012年8月から2014年10月までの期間に、日本大学動物病院で触診にてMPLと診断し、CT撮影を行ったトイ・プードルの後肢を用いて前向きに評価を行った。まずは、MPLと診断したトイ・プードルの後肢をSingletonのグレード分類に基づき、グレード1から4に分類した(Singleton, 1969)。本検討では、他の疾患による骨変形の影響を除外するために、MPLを含めた整形外科疾患を認めないトイ・プードルの後肢を正常群として用いた。

### 2.2.2. CT撮影

CT撮影は、全例で全身麻酔下にて行った。まずは、前投与薬として塩酸ミダゾラム(0.2 mg/kg)(ドルミカム, アステラス製薬(株), 東京)と酒石酸ブトर्फェノール(0.2 mg/kg)(ベトルフェール, Meiji Seika ファルマ(株), 東京)を静脈内へ投与した。次いで、プロポフォール(2.0-3.0 mg/kg)(マイラン, マイラン製薬(株), 大阪)を静脈内へ投与することにより導入し、1.5~2.0%のイソフルラン(イソフル, DS ファーマアニマルヘルス(株), 大阪)吸入麻酔にて全身麻酔を維持した。

CT撮影には、16列CT撮影装置(Aquilion LB 16 Slice, 東芝メディカルシステムズ(株), 大田原, 栃木)を使用し、医用画像解析ワークステーション(AZE VirtualPlace, AZE(株), 東京)を用いて三次元再構築を行った。CT撮影は、仰臥位に症例を保定し、股関節および膝関節を約90°に屈曲した状態で実施した。その際には、スライス厚が0.5mm、再構成間隔が0.3mmとなるように設定した。

### 2.2.3. 基準線の設定および測定用画像の作成

大腿骨では、大腿骨長の近位側 3 分の 1 および 2 分の 1 での横断面における同心円の中心である 2 つの点を通る直線を大腿骨基準線とした。大腿骨基準線に直交し、かつ大腿骨小転子を含む横断面において、頭側骨皮質の接線に平行な平面を大腿骨正面像とした (図 2-1A)。次いで、大腿骨基準線を中心に大腿骨を 90 度内旋させた像を大腿骨側面像とした (図 2-1B)。さらに、大腿骨を大腿骨基準線で正中方向に 90 度後屈させた像を大腿骨軸方向像とした (図 2-1C)。

大腿骨遠位部の骨形態を評価するために三次元再構築した大腿骨において、大腿骨内側顆および外側顆の尾側縁が最低 3 分の 1 以上重なるようにして大腿骨顆側面像を設定した (図 2-2A)。大腿骨顆側面像において、滑車溝の近位端と遠位端を結ぶ直線と直交するように大腿骨遠位部を 20 等分した。得られた横断面は、遠位から近位方向へ番号づけを行った (図 2-2B)。

脛骨では、以下に示す 2 つの基準点を結ぶ直線を脛骨の基準線とした。近位側の基準点は、Dismukes らの報告に基づき、内側顆間隆起と外側顆間隆起の中間点とした (Dismukes *et al.*, 2008)。遠位側の基準点は、距骨側面において距骨滑車に接する同心円の中心を通る線と距骨滑車の底部を通る矢状断面との交点とした (図 2-3A, B) (Dismukes *et al.*, 2008)。距骨滑車の底部を通る矢状断面において、脛骨最遠位の中間稜の最頭側点 (図 2-3A における点 a) および最尾側点 (図 2-3A における点 b) を設定し、これら 2 点が脛骨基準線上に一直線に配列される像を脛骨正面像とした (図 2-3A)。脛骨基準線を中心に脛骨を 90 度外旋させた像を脛骨側面像とした (図 2-3B)。次いで、脛骨近位の内旋変形が重度であっても脛骨

近位の形態の評価が正確に行えるように、脛骨基準線を中心に脛骨内側顆および外側顆の尾側縁が重なるように回転させて脛骨近位側面像を設定した(図 2-3C)。さらに、MPL の犬における脛骨稜の内方変位の有無を評価する目的で、脛骨稜の頂点と内側顆および外側顆の最尾側点在同一平面上を通る脛骨軸方向像を作成した(図 2-3D)。

## 2.2.4. 測定項目

### 2.2.4.1. 大腿骨

大腿骨正面像では、大腿骨近位の変形を評価する目的で anatomic lateral proximal femoral angle (aLPFA)、mechanical lateral proximal femoral angle (mLPFA)、頸体角を測定した。大腿骨遠位の内反変形を評価する目的で anatomic lateral distal femoral angle (aLDFA)、mechanical lateral distal femoral angle (mLDFA)、内反角の測定を行った(図 2-4A-C) (Hauptman *et al.*, 1979; Paley, 2003; Tomlinson *et al.*, 2007; Swiderski *et al.*, 2008)。

大腿骨側面像では、前屈を評価するために、anatomic caudal proximal femoral angle (aCdPFA)、mechanical caudal proximal femoral angle (mCdPFA)、anatomic caudal distal femoral angle (aCdDFA)、mechanical caudal distal femoral angle (mCdDFA) を測定した(図 2-4D, E) (Paley, 2003; Petazzoni, 2006)。さらに proximal anatomic axis (paa) と distal anatomic axis (daa) のなす角を前屈角とし計測を行った(図 2-4D) (Paley, 2003)。

大腿骨軸方向像では、大腿骨の回旋を評価する目的で前捻角を測定した(図 2-4F) (Nunamaker *et al.*, 1973; Montavon *et al.*, 1985; Towle *et al.*, 2005; Dudley *et al.*,

2006; Mostafa *et al.*, 2014; Barnes *et al.*, 2015)。さらに、大腿骨の捻転や大腿骨顆の形態による影響を除外し、大腿骨骨頸部の傾きのみを評価する目的で、大腿骨頸軸と水平線となす角を骨頭傾角として測定を行った (図 2-4G)。

大腿骨遠位部の各横断面において、内側滑車関節面と外側滑車関節面のなす角を顆間溝角 (Sulcus angle : SA) とした (図 2-5A) (Brattstroem *et al.*, 1964; Stefanik *et al.*, 2013)。その際に、測定する角の頂点は滑車溝の最も深い点とした。次いで、各横断面にて大腿骨顆の最尾側表面を通る後顆軸を作成し、後顆軸と内側滑車関節面のなす角を内側滑車傾角 (Medial trochlear inclination : MTI) とした (図 2-5A) (Carrillon *et al.*, 2000; Stefanik *et al.*, 2013)。同様に、各横断面にて後顆軸と外側滑車関節面のなす角を外側滑車傾角 (Lateral trochlear inclination : LTI) とした (図 2-5A) (Carrillon *et al.*, 2000; Stefanik *et al.*, 2013)。さらに、最遠位横断面の後顆軸に対する各横断面における内側滑車稜と外側滑車稜の頂点を結ぶ直線の傾きを滑車角 (Trochlear angle : TA) とした (図 2-5B) (Kalichman *et al.*, 2007)。

大腿骨顆の形態を評価する目的で、大腿骨遠位部を 3 つの区画に分けて検討を行った。本検討では、滑車溝底部より頭側を cranial compartment、顆間窩より尾側を caudal compartment、cranial compartment と caudal compartment の間の領域を middle compartment とした (図 2-6A)。各横断面における内側滑車稜の頂点と大腿骨内側顆の最尾側点の距離を MC とした (図 2-6B)。同様に、各横断面における外側滑車稜の頂点と大腿骨外側顆の最尾側点の距離を LC とした (図 2-6B)。さらに、MC あるいは LC を後顆軸に平行でかつ顆間窩を通過する直線で 2 つの領域に分け、頭側側を各々 MC (a) と LC (a')、尾側側を各々 MC (p) と LC (p') とした (図 2-6C)。大腿骨内側顆の骨幅 (Medial condylar width ; MCW) は、各横断面



における後顆軸に平行かつ MC (p) の中点を通る直線上での幅とした (図 2-6D)。  
同様に、大腿骨外側顆の骨幅 (Lateral condylar width ; LCW) は、各横断面における後顆軸に平行かつ LC (p') の中点を通る直線上での幅とした (図 2-6D)。Cranial および middle compartment と caudal compartment の関係性を評価するために、MC/LC、MC (a) /LC (a')、MC (a) /MC (p)、LC (a) /LC (p)、MC (p) /LC (p)、MCW/LCW をそれぞれ算出し比較を行った。

#### 2.2.4.2. 脛骨

脛骨正面像では、外反変形を評価する目的で mechanical medial proximal tibial angle (mMPTA) と mechanical medial distal tibial angle (mMDTA) を各々計測した (図 2-7A) (Paley, 2003; Dismukes *et al.*, 2007)。

脛骨側面像では、脛骨遠位の前屈を評価するために mechanical cranial distal tibial angle (mCrDTA) を測定した (図 2-7B) (Paley, 2003)。脛骨近位側面像では、脛骨近位の前屈を評価するために mechanical cranial proximal tibial angle (mCrPTA) を測定した。さらに、脛骨近位の形態を評価するために脛骨高平部角 (tibial plateau angle : TPA)、Z 角、relative tibial tuberosity width (rTTW) を各々測定した (図 2-7C, D) (Fettig *et al.*, 2003; Paley, 2003; Inauen *et al.*, 2009; Renwick *et al.*, 2009; Vedrine *et al.*, 2013)。

脛骨の回旋変形の評価には、Apelt らの報告に準じて、Tibial torsion angle (TTA) を算出した (図 2-7E) (Apelt *et al.*, 2005)。

脛骨軸方向像では、内外側方向における骨幅を proximal tibial width (PTW)、脛骨内側縁から脛骨稜の頂点までの距離を medial distance of tibial tuberosity (MDTT)

とし、脛骨稜の内方変位の有無を評価するために MDTT/PTW を算出した (図 2-7F)。

#### 2.2.4.3. 膝蓋骨

膝蓋骨では、長径、短径、厚み、容積の測定を行った (図 2-8A, B)。さらに、膝蓋骨の垂直方向の位置と MPL との関係の評価を目的で、膝蓋靭帯長と膝蓋骨長の比率を示す L:P 比を算出した (図 2-8A, C) (Insall & Salvati, 1971; Johnson *et al.*, 2002; Johnson *et al.*, 2006; Mostafa *et al.*, 2008)。

#### 2.2.5. 統計学的解析

本検討における各測定項目の計測には、画像解析ソフト (Osirix, Osirix Foundation, Lausanne, Switzerland) を使用し、各々の測定結果は平均値±標準偏差 (SD) で算出した。統計解析には、統計処理ソフト (GraphPad Prism version 6.0 for Macintosh, GraphPad Software Inc., San Diego, USA) を使用した。各群間の比較には、Kruskal-Wallis 検定を用い、事後比較には、Dunn's 多重比較検定を使用した。  $P < 0.05$  をもって有意差ありと判定した。

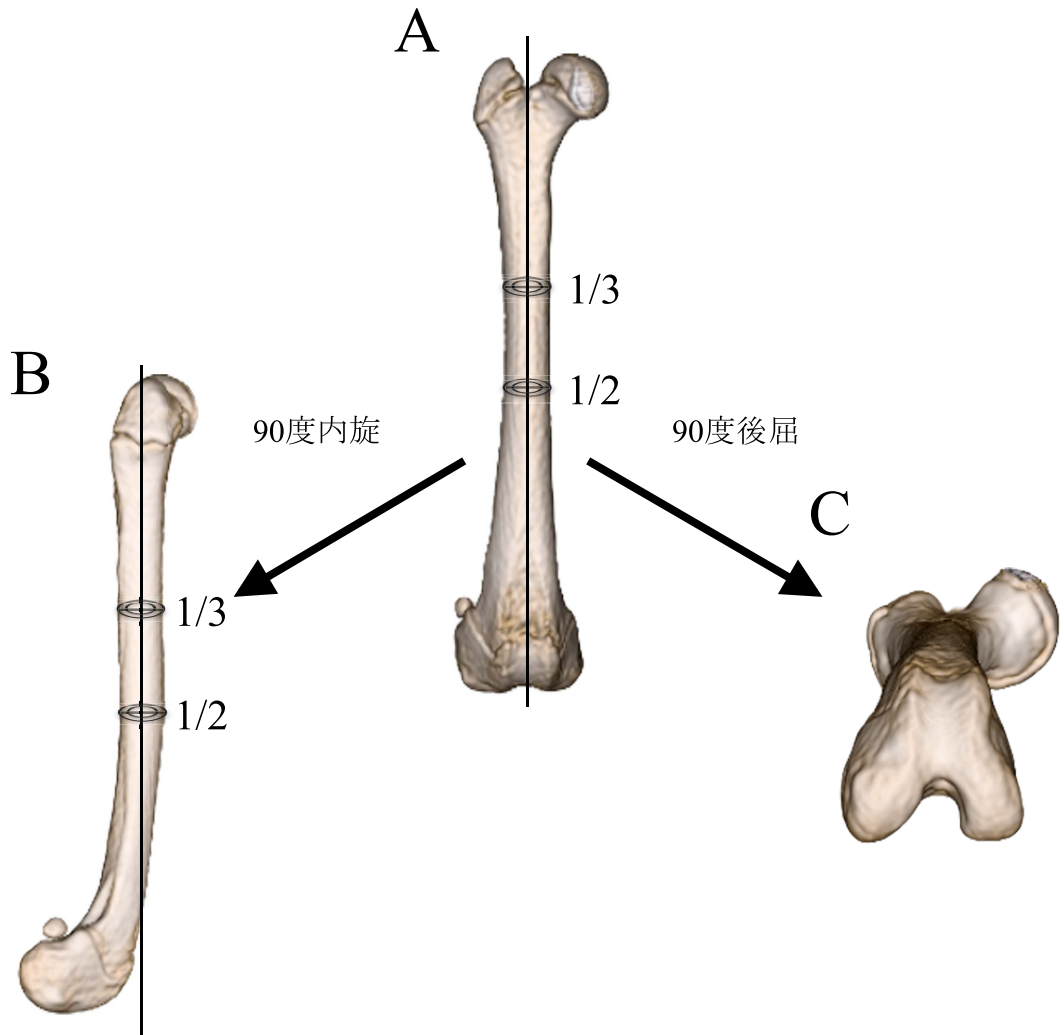


図 2-1 三次元のCT画像における大腿骨正面像と側面像、軸方向像

- A : 大腿骨正面像 ; 大腿骨長の近位側3分の1および2分の1での横断面における同心円の中心である2つの点を通る直線を大腿骨基準線とした。大腿骨基準線に直交し、かつ大腿骨小転子を含む横断面において、頭側骨皮質の接線に平行な平面を大腿骨正面像とした。
- B : 大腿骨側面像 ; 大腿骨基準線を中心に大腿骨を90度内旋させた像を大腿骨側面像とした。
- C : 大腿骨軸方向像 ; 大腿骨を大腿骨基準線で正中方向に90度後屈させた像を大腿骨軸方向像とした。

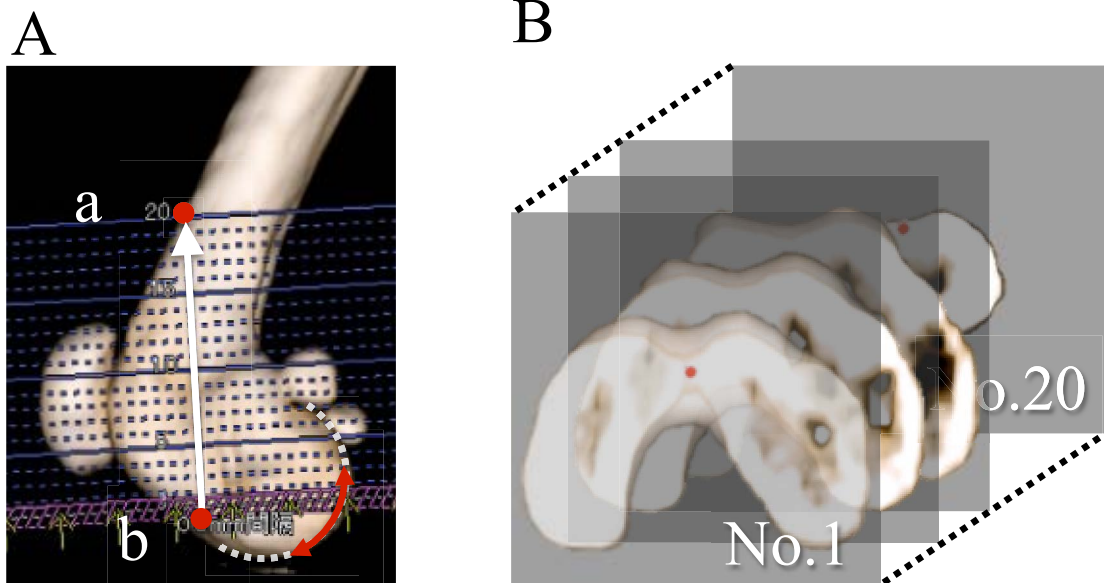


図 2-2 三次元のCT画像における大腿骨遠位部の評価

- A：大腿骨顆側面像；三次元再構築した大腿骨において、大腿骨内側顆および外側顆の尾側縁が最低3分の1以上重なるようにして大腿骨顆側面像を設定した。大腿骨顆側面像において、滑車溝の近位端（a）と遠位端（b）を結ぶ直線と直交するように大腿骨遠位部を20等分した。
- B：大腿骨遠位部の横断面；大腿骨遠位部の横断面は、遠位から近位方向へ番号づけを行った。

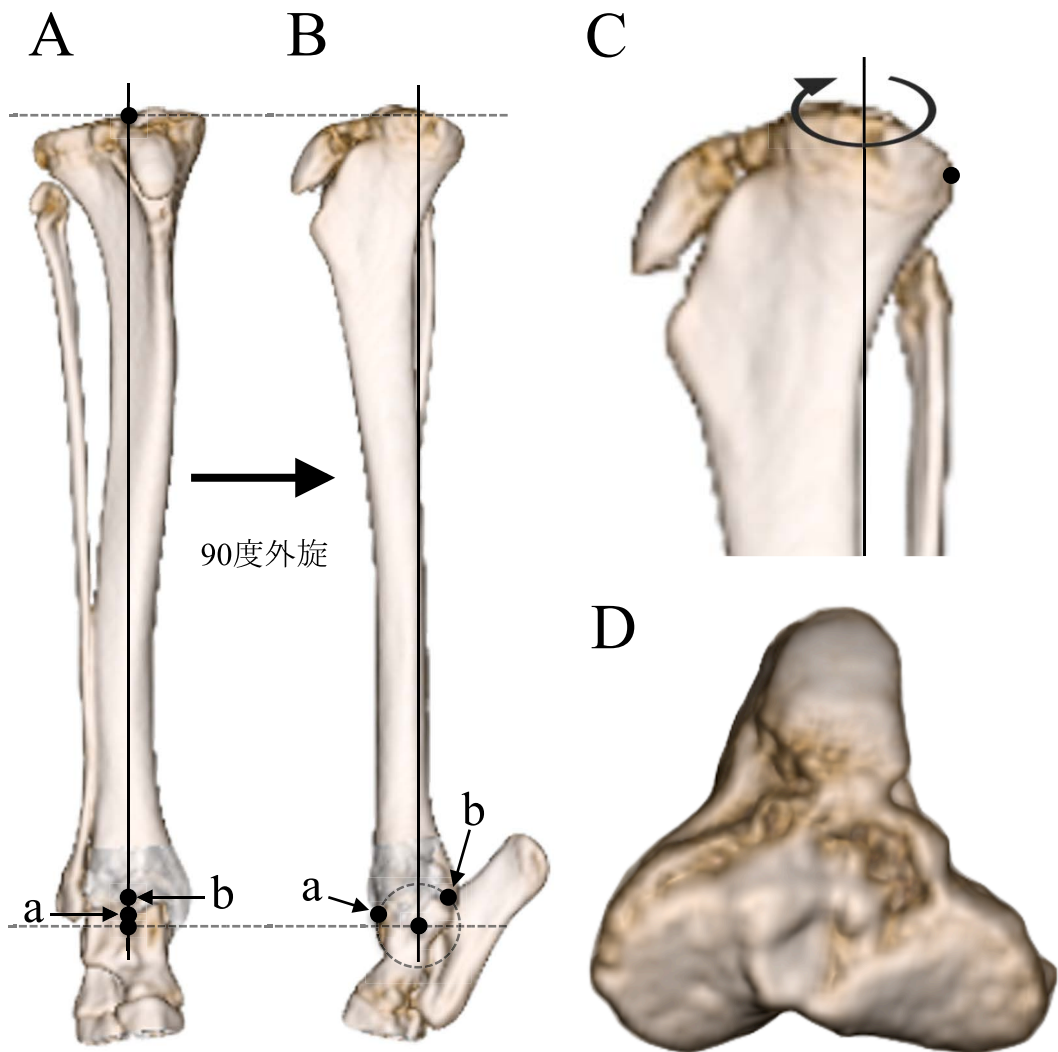


図 2-3 三次元のCT画像における脛骨正面像と側面像、近位側面像、軸方向像  
 A：脛骨正面像；以下に示す2つの基準点を結ぶ直線を脛骨の基準線とした。近位側の基準点は、内側顆間隆起と外側顆間隆起の中間点とした。遠位側の基準点は、距骨側面において距骨滑車に接する同心円の中心を通る線と距骨滑車の底部を通る矢状断面との交点とした。距骨滑車の底部を通る矢状断面において、脛骨最遠位の中間稜の最頭側点（a）および最尾側点（b）を設定し、これら2点が脛骨基準線上に一直列に配列される像を脛骨正面像とした。  
 B：脛骨側面像；脛骨基準線を中心に脛骨を90度外旋させた像を脛骨側面像とした。  
 C：脛骨近位側面像；脛骨基準線を中心に脛骨内側顆および外側顆の尾側縁が重なるように回転させた像を脛骨近位側面像とした。  
 D：脛骨軸方向像；脛骨稜の頂点と脛骨内側顆および外側顆の最尾側点が同一平面上を通る像を脛骨軸方向像とした。

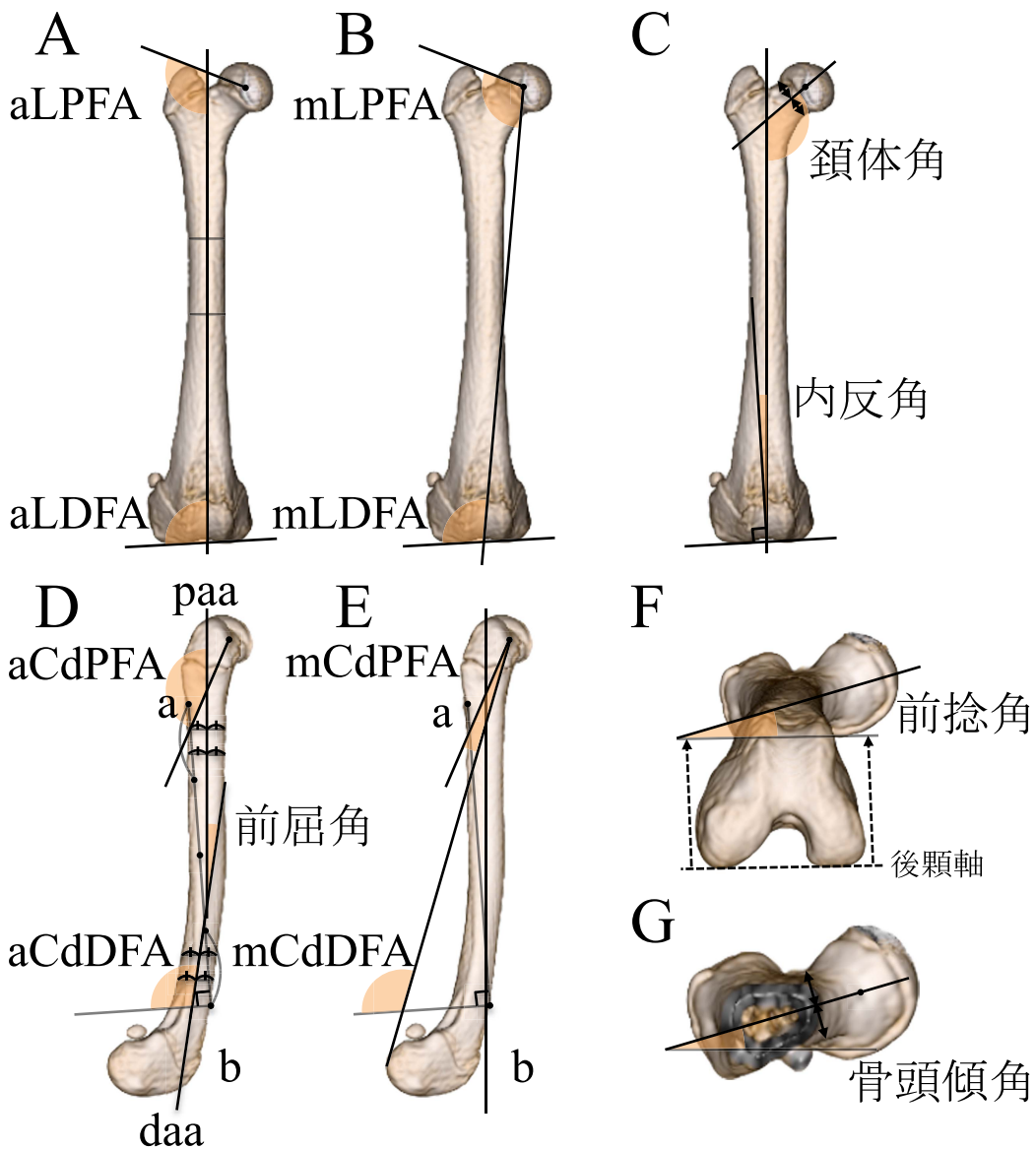


図 2-4 大腿骨における測定項目

- A : anatomic lateral proximal femoral angle (aLPFA) ; 大腿骨基準線と大腿骨近位関節面のなす角。anatomic lateral distal femoral angle (aLDFA) ; 大腿骨基準線と大腿骨遠位関節面のなす角。
- B : mechanical lateral proximal femoral angle (mLPFA) ; 大腿骨のmechanical axisと大腿骨近位関節面のなす角。mechanical lateral distal femoral angle (mLDFA) ; 大腿骨のmechanical axisと大腿骨遠位関節面のなす角。
- C : 頸体角 ; 大腿骨基準軸と大腿骨頸軸のなす角。内反角 ; 大腿骨基準軸と大腿骨遠位関節面に直交する直線のなす角。
- D : anatomic caudal proximal femoral angle (aCdPFA) ; 大腿骨頸軸とproximal anatomic axis (paa) とのなす角。anatomic caudal distal femoral angle (aCdDFA) ; 大腿骨小転子 (a) と滑車溝近位端 (b) を結ぶ直線に直交する直線とdistal anatomic axis (daa) とのなす角。前屈角 ; paaとdaaのなす角。
- E : mechanical caudal proximal femoral angle (mCdPFA) ; 大腿骨頸軸とmechanical axisのなす角。mechanical caudal distal femoral angle (mCdDFA) ; 直線abに直交する直線とmechanical axisのなす角。
- F : 前捻角 ; 大腿骨頸軸と後顆軸のなす角。
- G : 骨頭傾角 ; 大腿骨頸軸と水平線のなす角。

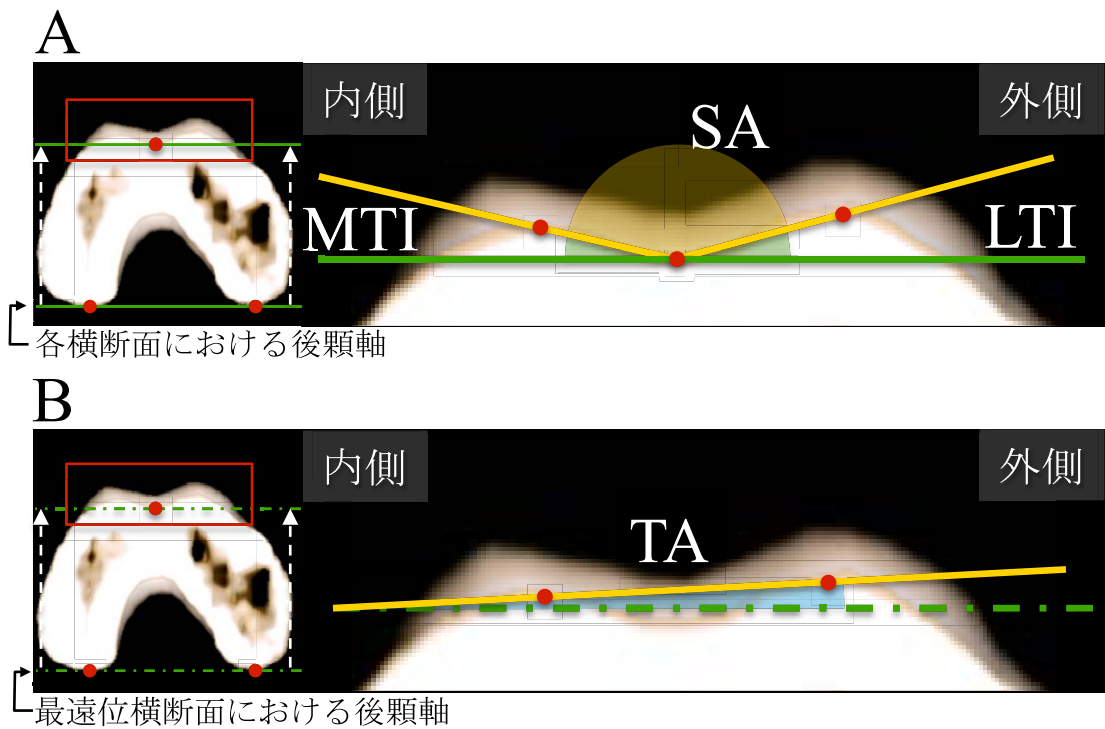
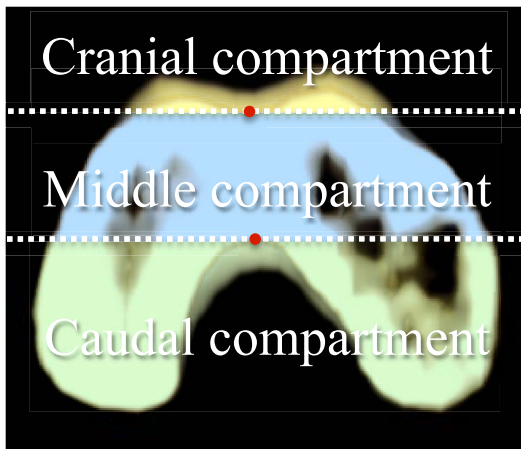


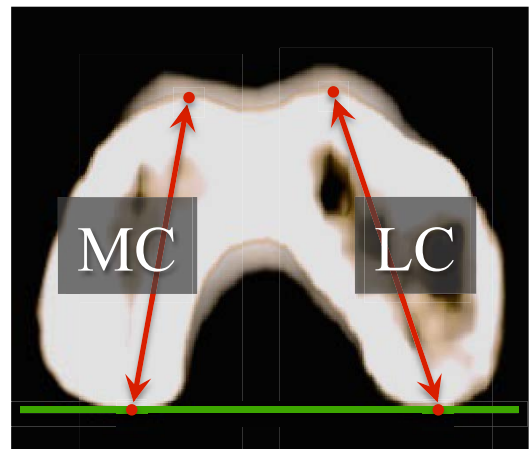
図 2-5 大腿骨の滑車溝における測定項目

- A : 顆間溝角 (SA) ; 内側滑車溝関節面と外側滑車溝関節面のなす角。測定する角の頂点は、滑車溝の最も深い点とした。内側滑車傾角 (Medial trochlear inclination : MTI) ; 各横断面における大腿骨顆の最尾側表面を通る後顆軸と内側滑車関節面のなす角。外側滑車傾角 (Lateral trochlear inclination : LTI) ; 各横断面における後顆軸と外側滑車関節面のなす角。
- B : 滑車角 (Trochlear angle : TA) ; 最遠位横断面の後顆軸と各横断面における内側滑車稜と外側滑車稜の頂点を結ぶ直線のなす角。

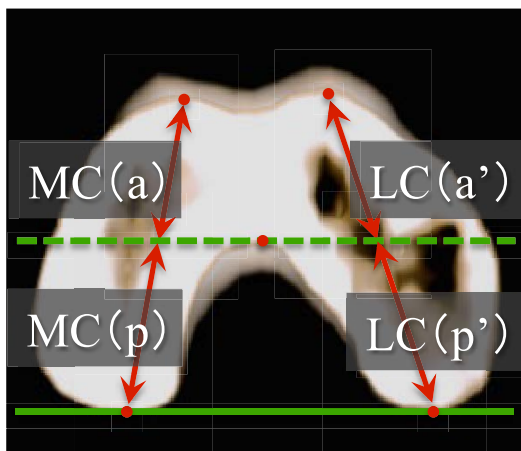
A



B



C



D

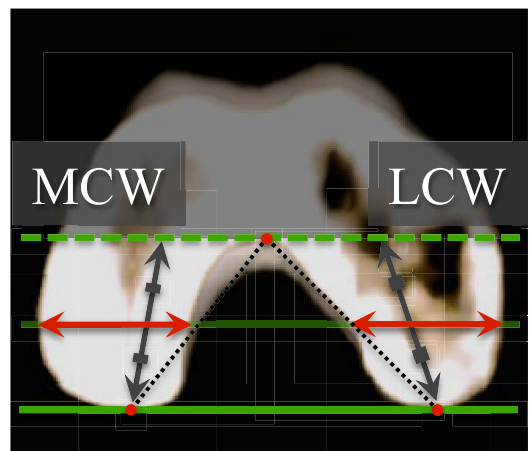


図 2-6 大腿骨顆における測定項目

A : 大腿骨顆の形態の評価

大腿骨顆の形態を評価する目的で、大腿骨遠位部を3つの区画に分けて検討を行った。本検討では、滑車溝底部より頭側をcranial compartment、顆間窩より尾側をcaudal compartment、cranial compartmentとcaudal compartmentの間の領域を middle compartmentとした。

B : 大腿骨内側顆および外側顆の形態の評価

MC ; 横断面における内側滑車稜の頂点と大腿骨内側顆の最尾側点の距離。  
LC ; 横断面における外側滑車稜の頂点と大腿骨外側顆の最尾側点の距離。

C : Cranial, middle, caudal compartmentの形態の比較

MC あるいは LC を後顆軸に平行で顆間窩を通過する直線で2つに分け、頭側側を各々MC (a) とLC (a')、尾側側を各々MC (p) とLC (p') とした。

D : 大腿骨内側顆および外側顆の骨幅の評価

Medial condylar width (MCW) ; 各横断面における後顆軸に平行かつMC (p) の中点を通る直線上での骨幅。 Lateral condylar width (LCW) ; 各横断面における後顆軸に平行かつLC (p') の中点を通る直線上での骨幅。



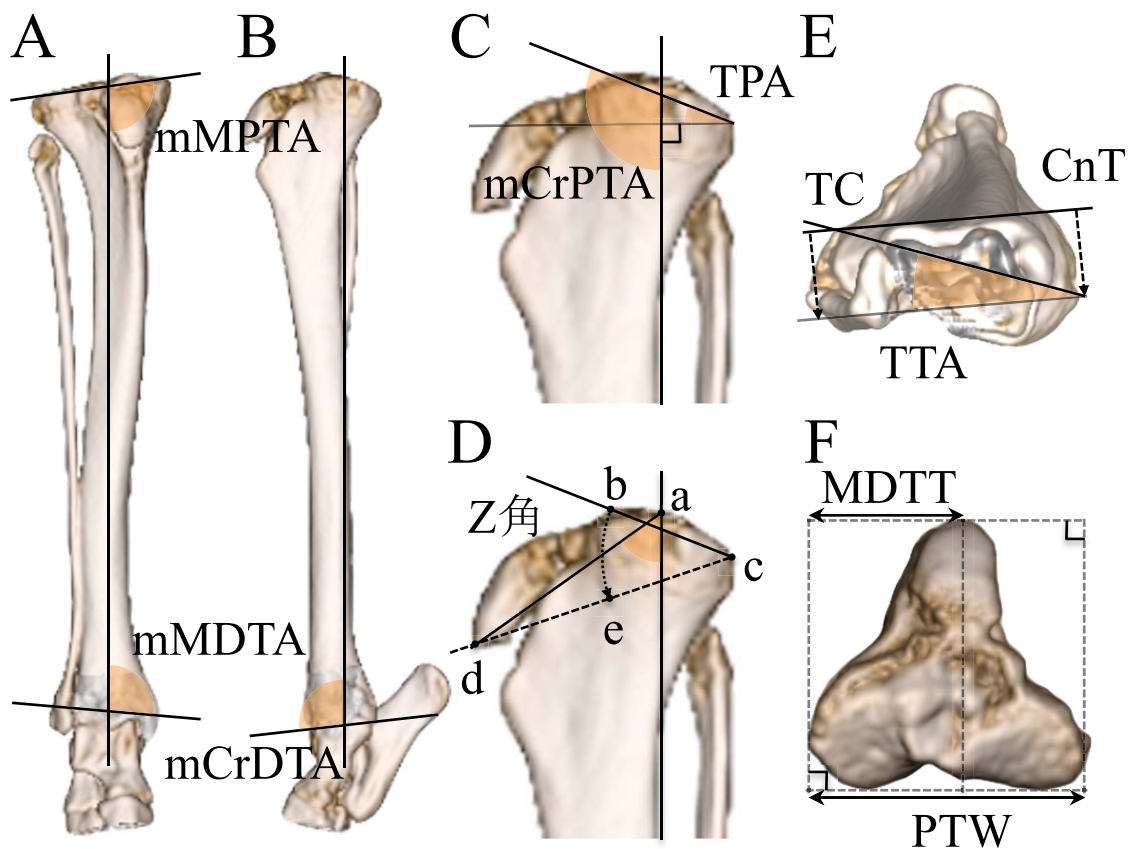


図 2-7 脛骨における測定項目

- A : mechanical medial proximal tibial angle (mMPTA) ; 脛骨基準線と脛骨近位関節面のなす角。mechanical medial distal tibial angle (mMDTA) ; 脛骨基準線と脛骨遠位関節面のなす角。
- B : mechanical cranial distal tibial angle (mCrDTA) ; 脛骨基準線と脛骨遠位関節面のなす角。
- C : mechanical cranial proximal tibial angle (mCrPPTA) ; 脛骨基準線と脛骨近位関節面のなす角。脛骨高平部角 (tibial plateau angle : TPA) ; 脛骨近位関節面と脛骨基準軸に直交する直線のなす角。
- D : Z角 ; 脛骨基準線と直線adのなす角。relative tibial tuberosity width (rTTW) ; 直線ceの距離に対する直線deの距離の比率。
- E : Tibial torsion angle (TTA) ; transcondylar (TC) axisとcranial tibial (CnT) axisのなす角。
- F : proximal tibial width (PTW) ; 脛骨近位の骨幅。medial distance of tibial tuberosity (MDTT) ; 脛骨内側縁から脛骨稜の頂点までの距離。
- a ; 内側外側顆間隆起および外側顆間隆起の中間点, b ; 脛骨高平部の最頭側点, c ; 脛骨高平部の最尾側点, d ; 脛骨稜の頂点, e ; cを中心とし、半径bcの円と直線cdとの交点。

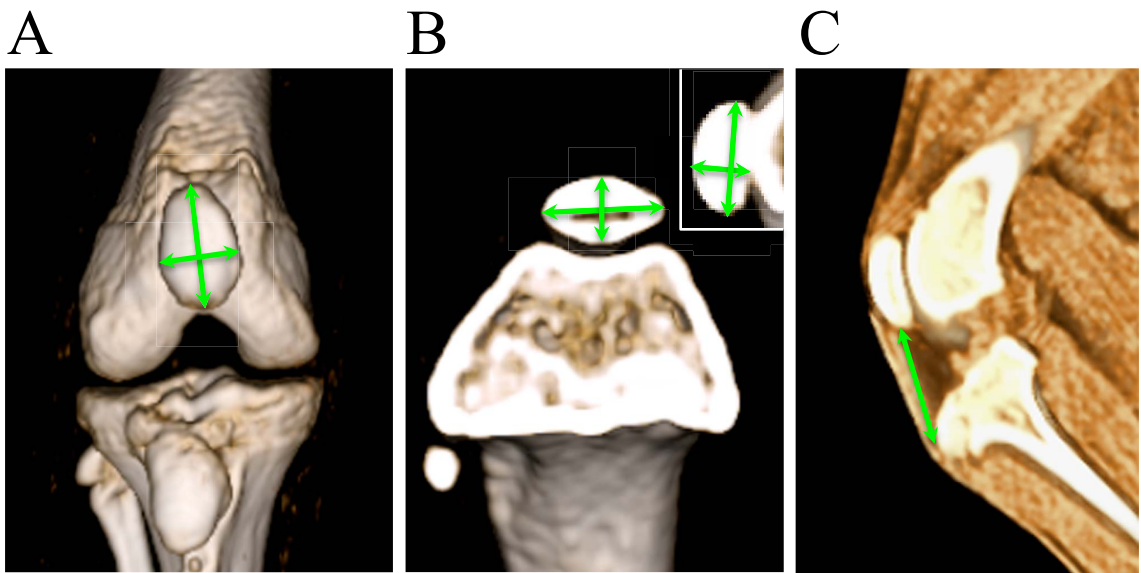


図 2-8 膝蓋骨における測定項目

- A：長径；膝蓋骨の最も長い長軸の距離。短径；膝蓋骨の最も幅の広い短軸の距離。  
 B：厚み；長軸に直交する直線で膝蓋骨の最も深い距離。  
 C：膝蓋靭帯長；膝蓋靭帯の起始部から脛骨稜の頂点までの距離。L:P比；膝蓋骨長径に対する膝蓋靭帯長の比率。

## 2.3. 結果

### 2.3.1. 評価対象

本検討では、トイ・プードル 27 頭の 41 肢を評価した。これらの犬の年齢は、3 ヶ月齢から 11 歳齢で、平均  $1.7 \pm 2.8$  歳齢であった。体重は、1.35kg から 6.38 kg で、平均  $2.8 \pm 1.4$ kg であった。性別は、雄が 4 頭、去勢雄が 5 頭、雌が 10 頭、不妊雌が 8 頭であった。本検討に用いた後肢の各グレードの内訳は、グレード 1 群が 3 肢、グレード 2 群が 10 肢、グレード 3 群が 3 肢、グレード 4 群が 10 肢であった。本検討では、15 肢の後肢が正常群に該当した。

### 2.3.2. 大腿骨

大腿骨の内反を評価するための aLDFA、mLDFA、内反角は、正常群とグレード 2 群に比べグレード 4 群でのみ有意な高値を示した。また、大腿骨の回旋を示す前捻角は、グレード 4 群でのみ正常群およびグレード 1 群に比べ有意な低値を示した。mLPFA、頸体角、aCdPFA、mCdPFA、aCdDFA、mCdDFA、前屈角、骨頭傾角においては、各群間で有意差は認められなかった（表 2-1）。

SA は、全ての群において滑車溝の遠位 4 分の 1 では増加し、近位方向へ向かうにつれて減少するものの、再び近位 2 分の 1 では増加する傾向を示した。グレード 4 群では、近位 2 分の 1 で SA の測定が困難な症例が複数存在していたため、統計学的解析は全ての群で SA の測定が可能であった No.1 から No.8 で実施した。その結果、グレード 4 群では、正常群と比較して SA の有意な高値を示した（図 2-9）。内側滑車溝関節面または外側滑車溝関節面の傾きを示す MTI と LTI は、全ての群で測定可能であった No.1 から No.4 で統計処理を行った。MTI は、グレー

ド4群では正常群およびグレード2群に比較して有意な低値を示した。その一方で、LTIは各群間で有意差は認められなかった(表2-2)。滑車の傾きを示すTAは、グレード4群では滑車溝の遠位から近位方向において減少する傾向を示したのに対し、他群では増加する傾向を示した(図2-10)。グレード4群におけるTAは、滑車溝の遠位部分では他群に比べて高値を示したが、近位部分では低値を示した。また、滑車溝の近位部分では、グレード2群のTAが正常群に比べて有意な高値を示した。

大腿骨顆における測定項目は、全ての群で測定可能であったNo.1からNo.4で統計処理を行った(表2-3)。MC/LCは、グレード2群に比べてグレード4群で低い傾向がみられた。MC(a)/LC(a')はグレード4群で他群に比較して低い傾向を示し、MC(a)/MC(p)、LC(a')/LC(p')は正常群、グレード2群、グレード3群に比べてグレード4群で有意な低値を示した。また、MC(p)/LC(p')とMCW/LCWにおいては、各群間で有意差は認められなかった。

### 2.3.3. 脛骨

脛骨の回旋を示すTTAは、正常群およびグレード2群に比べてグレード4群において、有意な高値を示した。さらに、脛骨稜の内方変位を示すMDTT/PTWは、正常群に比べてグレード4群において有意な低値を示した。その一方で、mMPTA、mMDTA、mCrPTA、mCrDTA、TPA、Z角、rTTWにおいては、各群間で有意差は認められなかった(表2-4)。

### 2.3.4. 膝蓋骨

膝蓋骨の長径と短径、L:P 比は、各群間で有意差は認められなかった。その一方で、膝蓋骨の厚みと容積は、正常群に比べてグレード4群で有意な低値が認められた (表 2-5)。

本検討では CT を用いて、対象となる骨を三次元画像で再構築し、骨形態を評価したところ、X 線画像では評価が不可能であった回旋変形などの重度な変形があっても、全ての項目を正確に測定することが可能であった。本検討の結果より、MPL のトイ・プードルにおいては、グレード4においてのみ、大腿骨、脛骨、膝蓋骨の全てに様々な骨変形が生じていたことが明らかとなった。グレード4のMPLの症例の大腿骨においては、内反変形、外方捻転、滑車溝の低形成が生じていた (図 2-11)。また、大腿骨遠位部では cranial および middle compartment の低形成が生じており、これまでに報告されていた caudal compartment の内側領域での低形成は認められなかった (図 2-11)。脛骨においては、脛骨近位の内旋変形が顕著であり、脛骨稜が内方へと変位していた (図 2-12)。さらに、重度のMPLにおいては、明らかな膝蓋骨の低形成が生じていた。

表 2-1 大腿骨における各種項目の測定結果

	正常群	グレード1群	グレード2群	グレード3群	グレード4群
aLPFA	119.5 ± 5.7	116.6 ± 3.3	118.7 ± 4.4	125.5 ± 1.6 <sup>e</sup>	112.7 ± 6.8 <sup>d</sup>
mLPFA	113.6 ± 6.1	109.7 ± 4.4	113.1 ± 3.9	120.5 ± 2.5	109.7 ± 6.4
頸体角	116.8 ± 6.1	116.9 ± 0.7	118.0 ± 6.8	112.5 ± 9.5	118.3 ± 9.3
aLDFA	90.3 ± 2.8 <sup>e</sup>	91.6 ± 1.8	89.5 ± 3.8 <sup>e</sup>	93.1 ± 3.4	108.1 ± 8.0 <sup>a,c</sup>
mLDFA	96.2 ± 2.5 <sup>e</sup>	98.5 ± 2.1	95.0 ± 3.6 <sup>e</sup>	97.8 ± 4.1	111.1 ± 6.9 <sup>a,c</sup>
内反角	0.3 ± 2.8 <sup>e</sup>	1.6 ± 1.8	-0.6 ± 3.8 <sup>e</sup>	3.1 ± 3.4	18.1 ± 8.0 <sup>a,c</sup>
aCdPFA	153.3 ± 5.1	154.7 ± 10.4	151.6 ± 6.0	147.3 ± 10.9	151.7 ± 5.6
mCdPFA	9.6 ± 5.5	8.0 ± 5.9	11.3 ± 5.9	13.1 ± 9.1	10.4 ± 6.2
aCdDFA	102.9 ± 3.2	105.3 ± 2.6	102.6 ± 3.5	103.2 ± 5.7	104.7 ± 5.7
mCdDFA	108.4 ± 1.7	108.8 ± 3.6	107.5 ± 2.6	110.1 ± 2.7	107.0 ± 2.7
前屈角	11.2 ± 5.2	14.7 ± 3.2	11.1 ± 5.4	12.6 ± 3.5	15.8 ± 6.9
前捻角	19.8 ± 4.6 <sup>e</sup>	24.5 ± 9.1 <sup>e</sup>	16.6 ± 4.8	19.2 ± 12.2	9.6 ± 5.2 <sup>a,b</sup>
骨頭傾角	20.8 ± 4.1	19.1 ± 9.8	21.7 ± 4.9	22.6 ± 7.0	19.3 ± 7.6

a, b, c: 上付き小文字がついている測定値は、各群間で統計学的に有意差があったことを示す ( $P < 0.05$ ) (a; vs. 正常群、b; vs. グレード1群、c; vs. グレード2群、d; vs. グレード3群、e; vs. グレード4群)。

aLPFA = anatomic lateral proximal femoral angle、mLPFA = mechanical LPFA、aLDFA = anatomic lateral distal femoral angle、mLDFA = mechanical LDFA、aCdPFA = anatomic caudal proximal femoral angle、mCdPFA = mechanical CdPFA、aCdDFA = anatomic caudal distal femoral angle、mCdDFA = mechanical CdDFA。

表 2-2 MTI および LTI の測定結果

		正常群	グレード1群	グレード2群	グレード3群	グレード4群
MTI	No.1	27.9 ± 6.0 <sup>c</sup>	27.0 ± 7.1	30.8 ± 9.7 <sup>c</sup>	24.2 ± 13.6	12.9 ± 9.2 <sup>a,c</sup>
	No.2	19.8 ± 6.1 <sup>c</sup>	19.8 ± 6.2 <sup>c</sup>	20.0 ± 6.2 <sup>c</sup>	15.0 ± 3.0	6.0 ± 8.0 <sup>a,c</sup>
	No.3	16.6 ± 4.0 <sup>c</sup>	14.3 ± 4.7	15.5 ± 8.5 <sup>c</sup>	13.8 ± 2.5	3.7 ± 4.9 <sup>a,c</sup>
	No.4	13.7 ± 4.2 <sup>c</sup>	11.9 ± 3.6 <sup>c</sup>	13.2 ± 7.7 <sup>c</sup>	11.2 ± 7.7	0.6 ± 5.1 <sup>a,c</sup>
LTI	No.1	29.7 ± 6.6	24.2 ± 6.4	29.0 ± 8.8	25.2 ± 1.3	25.7 ± 8.2
	No.2	22.9 ± 4.7	16.7 ± 2.2	18.7 ± 8.7	16.1 ± 9.8	21.3 ± 8.0
	No.3	21.3 ± 5.1	15.8 ± 2.9	16.9 ± 8.0	13.8 ± 8.3	16.3 ± 7.6
	No.4	22.4 ± 4.6	13.9 ± 2.1	17.1 ± 6.1	15.0 ± 7.6	18.1 ± 7.4

a, b, c: 上付き小文字がついている測定値は、各群間で統計学的に有意差があったことを示す ( $P < 0.05$ ) (a ; vs. 正常群、b ; vs. グレード1群、c ; vs. グレード2群、d ; vs. グレード3群、e ; vs. グレード4群)。

MTI = medial trochlear inclination、LTI = lateral trochlear inclination.

表 2-3 大腿骨顆における各種項目の測定結果

		正常群	グレード1群	グレード2群	グレード3群	グレード4群
MC/LC	No.1	0.95 ± 0.04	0.98 ± 0.02	1.00 ± 0.04 <sup>c</sup>	0.98 ± 0.10	0.91 ± 0.07 <sup>c</sup>
	No.2	0.96 ± 0.04 <sup>e</sup>	0.98 ± 0.02	0.97 ± 0.04 <sup>c</sup>	0.98 ± 0.06	0.89 ± 0.07 <sup>a, c</sup>
	No.3	0.95 ± 0.03	0.96 ± 0.03	0.97 ± 0.04	1.00 ± 0.06	0.90 ± 0.07
	No.4	0.94 ± 0.03	0.97 ± 0.04	0.99 ± 0.09 <sup>c</sup>	0.99 ± 0.07	0.89 ± 0.07 <sup>c</sup>
MC (a)/LC (a')	No.1	0.94 ± 0.11	0.98 ± 0.06	1.06 ± 0.15 <sup>c</sup>	1.01 ± 0.27	0.69 ± 0.25 <sup>c</sup>
	No.2	0.94 ± 0.07 <sup>e</sup>	0.98 ± 0.03	0.98 ± 0.08 <sup>c</sup>	0.99 ± 0.12	0.76 ± 0.17 <sup>a, c</sup>
	No.3	0.94 ± 0.04	0.96 ± 0.04	0.97 ± 0.07 <sup>c</sup>	1.00 ± 0.09	0.83 ± 0.12 <sup>c</sup>
	No.4	0.94 ± 0.04	0.96 ± 0.05	1.00 ± 0.13 <sup>c</sup>	0.99 ± 0.08	0.83 ± 0.10 <sup>c</sup>
MC (a)/MC (p)	No.1	0.48 ± 0.11 <sup>e</sup>	0.46 ± 0.09	0.51 ± 0.20 <sup>e</sup>	0.61 ± 0.12 <sup>e</sup>	0.23 ± 0.08 <sup>a, c, d</sup>
	No.2	0.89 ± 0.20 <sup>e</sup>	0.89 ± 0.32	0.90 ± 0.31 <sup>e</sup>	1.23 ± 0.27 <sup>e</sup>	0.47 ± 0.22 <sup>a, c, d</sup>
	No.3	1.55 ± 0.29 <sup>e</sup>	1.49 ± 0.53	1.62 ± 0.51 <sup>e</sup>	1.95 ± 0.21 <sup>e</sup>	0.99 ± 0.40 <sup>a, c, d</sup>
	No.4	2.55 ± 0.57 <sup>e</sup>	2.37 ± 0.54	2.09 ± 0.49	2.75 ± 0.18 <sup>e</sup>	1.44 ± 0.47 <sup>a, d</sup>
LC (a')/LC(p')	No.1	0.50 ± 0.13 <sup>e</sup>	0.46 ± 0.12	0.49 ± 0.19	0.65 ± 0.26	0.34 ± 0.06 <sup>a</sup>
	No.2	0.91 ± 0.20 <sup>e</sup>	0.89 ± 0.32	0.92 ± 0.30 <sup>e</sup>	1.25 ± 0.43 <sup>e</sup>	0.58 ± 0.15 <sup>a, c, d</sup>
	No.3	1.58 ± 0.28 <sup>e</sup>	1.51 ± 0.51	1.71 ± 0.50 <sup>e</sup>	1.93 ± 0.07 <sup>e</sup>	1.14 ± 0.31 <sup>a, c, d</sup>
	No.4	2.64 ± 0.60 <sup>e</sup>	2.40 ± 0.48	2.10 ± 0.36	2.84 ± 0.19 <sup>e</sup>	1.68 ± 0.42 <sup>a, d</sup>
MC (p)/LC (p')	No.1	0.96 ± 0.02	0.98 ± 0.01	0.97 ± 0.03	0.99 ± 0.01	0.98 ± 0.03
	No.2	0.97 ± 0.02	0.97 ± 0.02	0.97 ± 0.01	0.98 ± 0.03	0.97 ± 0.04
	No.3	0.97 ± 0.02	0.97 ± 0.02	0.97 ± 0.01	1.00 ± 0.02	0.98 ± 0.02
	No.4	0.97 ± 0.01	0.98 ± 0.02	0.97 ± 0.02	1.02 ± 0.03	0.98 ± 0.03
MCW/LCW	No.1	0.87 ± 0.04	1.06 ± 0.27	0.95 ± 0.08	0.97 ± 0.16	0.97 ± 0.17
	No.2	0.87 ± 0.06	0.96 ± 0.11	0.95 ± 0.09	1.01 ± 0.04	1.01 ± 0.20
	No.3	0.90 ± 0.06	1.01 ± 0.07	0.97 ± 0.07	0.99 ± 0.10	0.99 ± 0.15
	No.4	0.88 ± 0.09	0.95 ± 0.03	0.86 ± 0.11	0.93 ± 0.10	0.89 ± 0.13

a, b, c : 上付き小文字がついている測定値は、各群間で統計学的に有意差があったことを示す ( $P < 0.05$ ) (a ; vs. 正常群、b ; vs. グレード1群、c ; vs. グレード2群、d ; vs. グレード3群、e ; vs. グレード4群)。



表 2-4 脛骨における各種項目の測定結果

	正常群	グレード1群	グレード2群	グレード3群	グレード4群
mMPTA	94.8 ± 2.1	93.8 ± 2.6	94.7 ± 1.7	97.6 ± 3.6	94.5 ± 4.4
mMDTA	96.5 ± 4.1	98.4 ± 4.9	95.2 ± 2.4	93.0 ± 6.4	98.5 ± 4.1
mCrPTA	111.3 ± 3.3	110.9 ± 0.6	111.2 ± 3.4	116.0 ± 3.8	112.7 ± 4.2
mCrDTA	98.5 ± 3.8	104.3 ± 3.6	99.2 ± 3.1	99.6 ± 6.2	98.6 ± 6.4
TPA	21.3 ± 3.3	20.9 ± 0.6	21.2 ± 3.4	26.0 ± 3.8	22.7 ± 4.2
Z角	65.7 ± 4.6	65.7 ± 3.2	66.2 ± 3.8	69.1 ± 5.3	67.2 ± 5.8
rTTW	0.74 ± 0.09	0.71 ± 0.08	0.73 ± 0.13	0.67 ± 0.03	0.76 ± 0.10
TTA	11.3 ± 4.3 <sup>e</sup>	16.0 ± 5.8	13.0 ± 7.9 <sup>e</sup>	22.3 ± 9.6	32.8 ± 7.9 <sup>a,c</sup>
MDTT/PTW	0.52 ± 0.04 <sup>e</sup>	0.50 ± 0.05	0.51 ± 0.05	0.51 ± 0.02	0.43 ± 0.05 <sup>a</sup>

a, b, c: 上付き小文字がついている測定値は、各群間で統計学的に有意差があったことを示す ( $P < 0.05$ ) (a ; vs. 正常群、b ; vs. グレード1群、c ; vs. グレード2群、d ; vs. グレード3群、e ; vs. グレード4群)。

mMPTA = mechanical medial proximal tibial angle、mMDTA = mechanical medial distal tibial angle、mCrPTA = mechanical cranial proximal tibial angle、mCrDTA = mechanical cranial distal tibial angle、TPA = tibial plateau angle、rTTW = relative tibial tuberosity width、TTA = tibial torsion angle、MDTT/PTW = ratio of the medial distance of the tibial tuberosity to the proximal tibial width.

表 2-5 膝蓋骨における各種項目の測定結果

	正常群	グレード1群	グレード2群	グレード3群	グレード4群
長径	10.6 ± 1.6	11.0 ± 1.2	9.2 ± 0.9	10.5 ± 1.6	9.2 ± 1.2
短径	6.8 ± 1.2	7.4 ± 0.6	5.9 ± 1.0	6.7 ± 1.6	5.7 ± 1.0
厚み	4.5 ± 0.5 <sup>c</sup>	4.4 ± 0.6	3.8 ± 0.5	4.1 ± 0.6	3.3 ± 0.6 <sup>a</sup>
容積	0.22 ± 0.08 <sup>c</sup>	0.24 ± 0.05	0.15 ± 0.06	0.22 ± 0.11	0.13 ± 0.07 <sup>a</sup>
L:P 比	1.77 ± 0.19	1.70 ± 0.02	1.17 ± 0.17	1.47 ± 0.30	1.60 ± 0.27

a, b, c: 上付き小文字がついている測定値は、各群間で統計学的に有意差があったことを示す ( $P < 0.05$ ) (a ; vs. 正常群、b ; vs. グレード1群、c ; vs. グレード2群、d ; vs. グレード3群、e ; vs. グレード4群)。

L:P 比 = 膝蓋骨の長径に対する膝蓋靭帯長の比率。

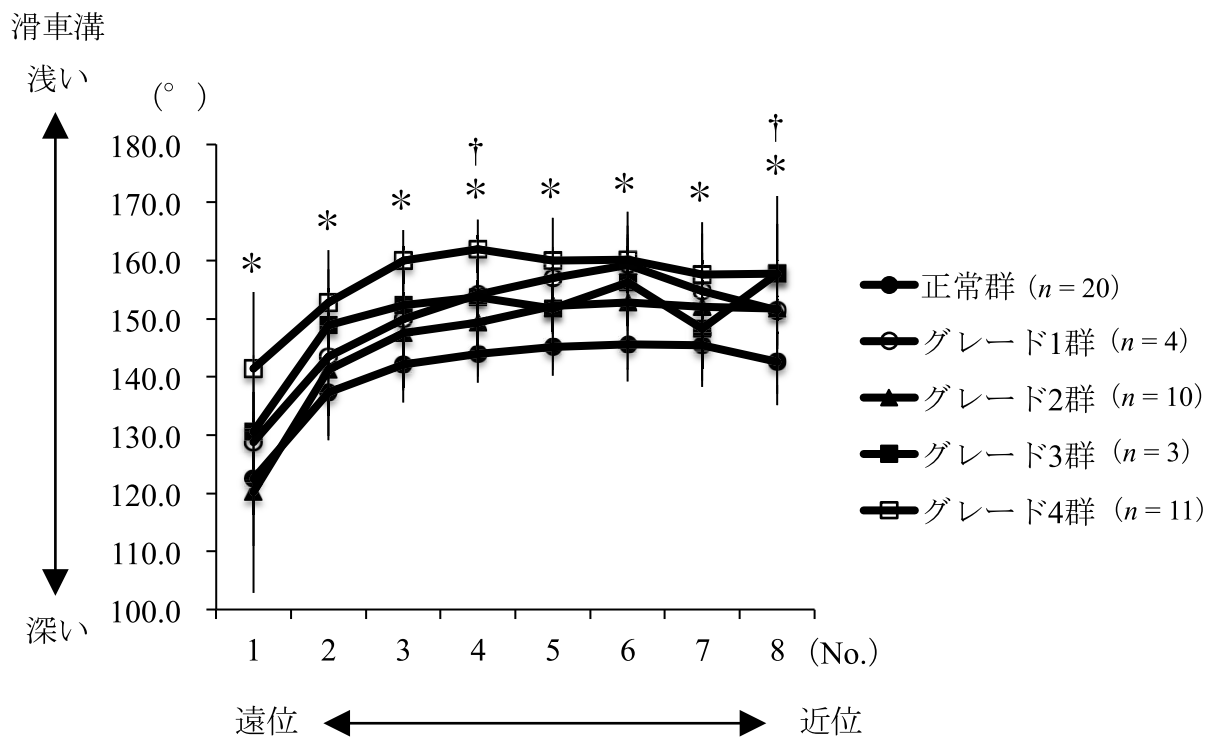


図 2-9 顎間溝角 (SA) の測定結果

記号がついている測定値は、各群間で統計学的に有意差があったことを示す ( $P < 0.05$ ) (\* : 正常群 vs. グレード4群、† : グレード2群 vs. グレード4群)。

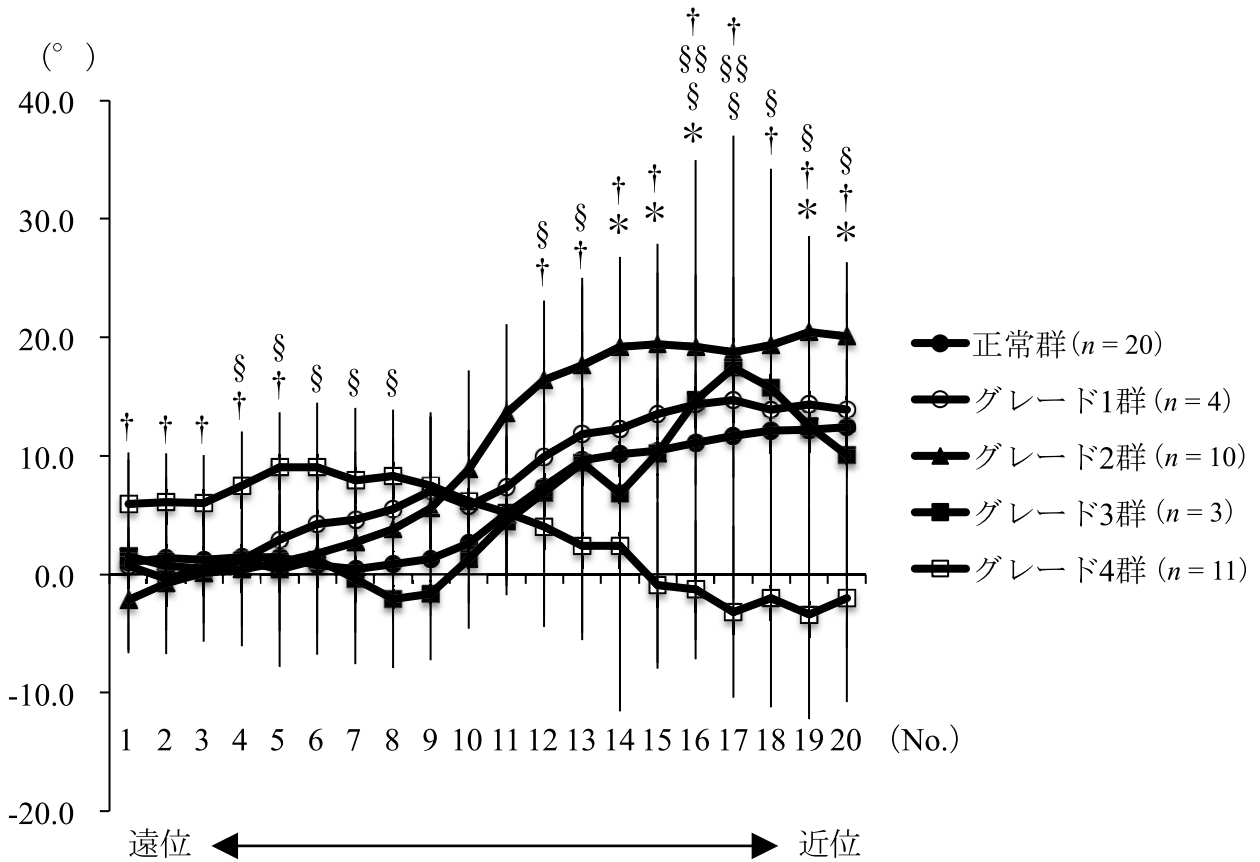


図 2-10 滑車角 (TA) の測定結果

記号がついている測定値は、各群間で統計学的に有意差があったことを示す ( $P < 0.05$ ) (\* : 正常群 vs. グレード2群、§ : 正常群 vs. グレード4群、§§ : グレード1群 vs. グレード4群、† : グレード2群 vs. グレード4群)。

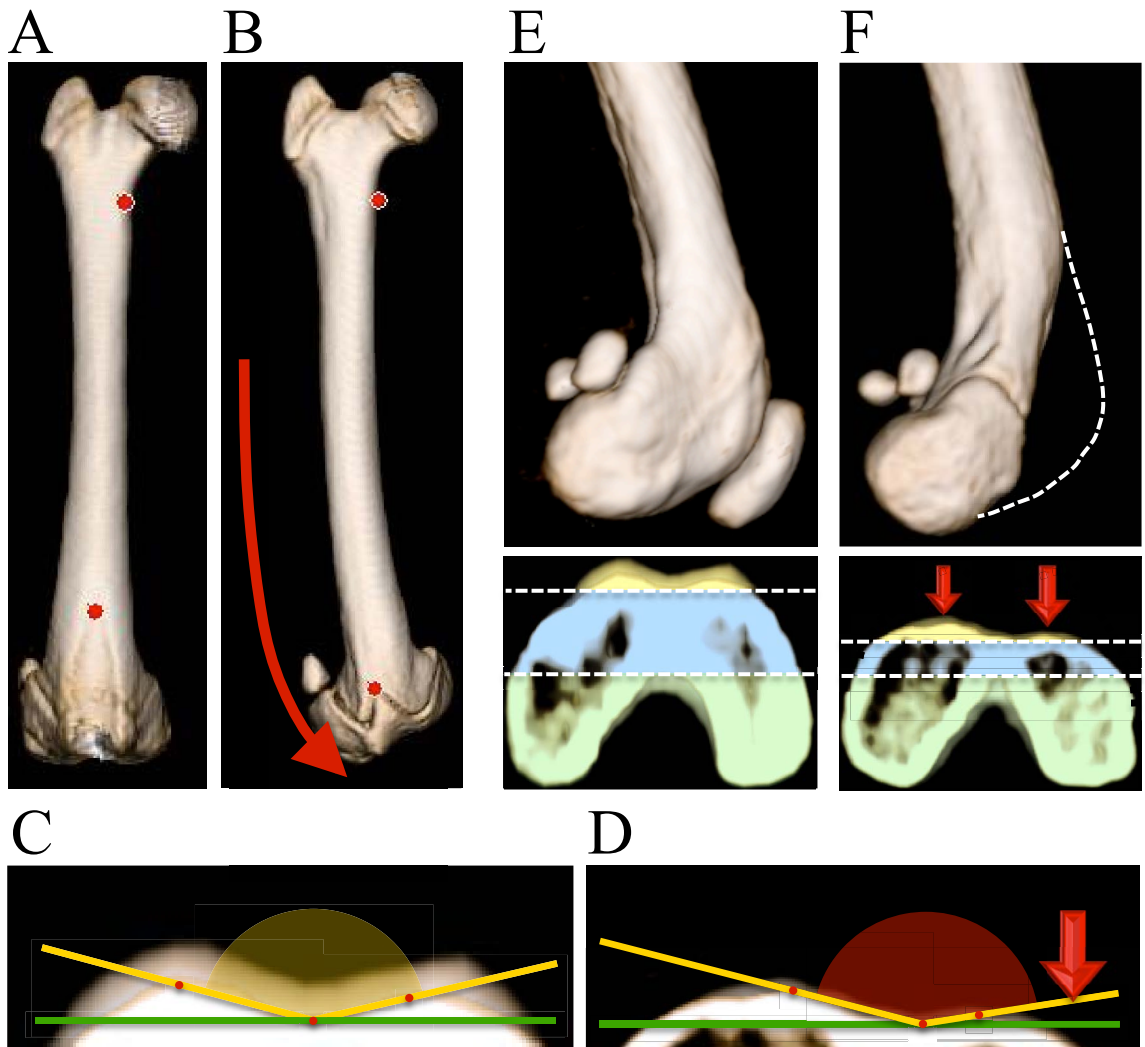


図 2-11 大腿骨の形態 (A, C, E : 正常、B, D, F : グレード4)

A, B : 正常およびグレード4のトイプードルの大腿骨正面像。グレード4では、著しい内反変形が認められる。

C, D : 正常およびグレード4のトイプードルの滑車溝。グレード4では、著しい滑車溝の低形成が生じている。

E, F : 正常およびグレード4のトイプードルの大腿骨顆側面像。大腿骨遠位部ではcranialおよびmiddle compartmentの低形成が生じていたのに対し、caudal compartmentの内側領域における低形成は認められない。

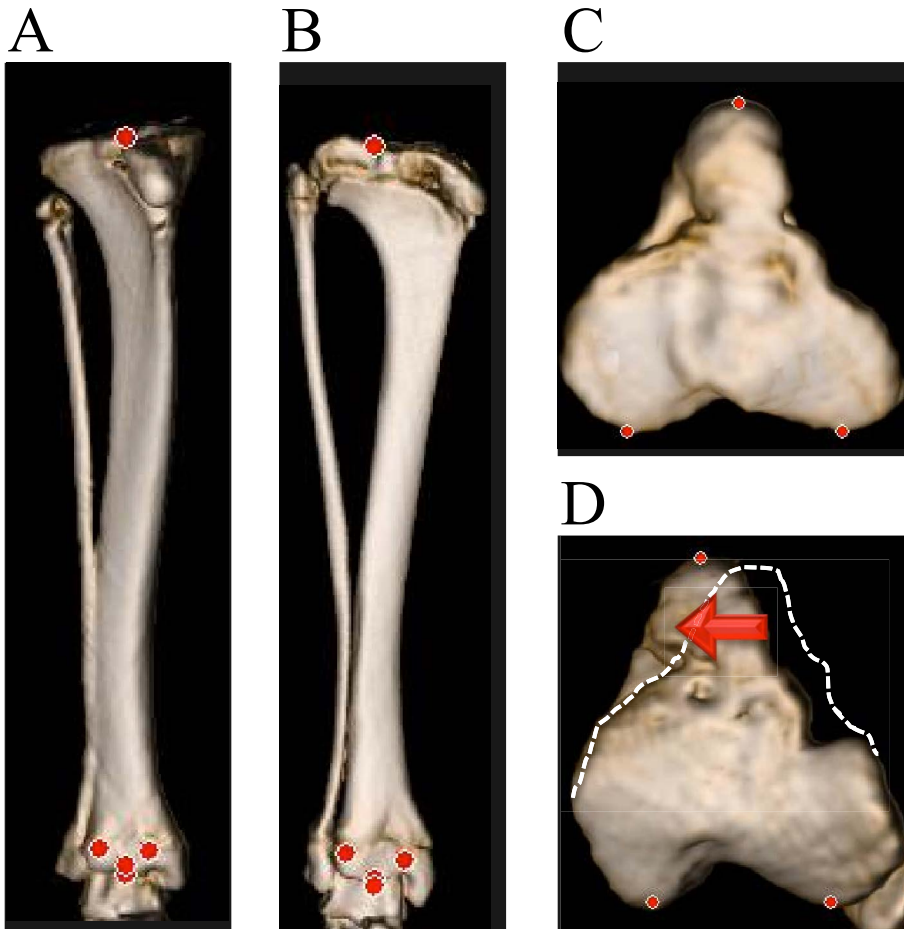


図 2-12 脛骨の形態 (A, C : 正常、B, D : グレード4)

A, B : 正常およびグレード4のトイプードルの脛骨正面像。グレード4では、著しい脛骨近位の内旋変形が認められる。

C, D : 正常およびグレード4のトイプードルの脛骨軸方向像。グレード4では、脛骨稜の内方変位が認められる。

## 2.4. 考察

大腿骨では、MPLの重症度が増すにつれて、遠位3分の1の内反変形が生じるとされている(Hulse, 1981; Schulz, 2002; Vasseur *et al.*, 2003; Piermattei *et al.*, 2006)。本検討では、CTを用いて三次元で骨形態を解析したところ、グレード1から3群におけるaLDFA、mLDFA、内反角は、正常群と比べ有意差は認められず、これは過去の報告と一致していた(Mortari *et al.*, 2009)。一方で、グレード4群におけるaLDFA、mLDFA、内反角は、正常群と比べて有意な高値を示していた(表 2-1)。これらの結果より、グレード4のMPLの症例においては、大腿骨の内反変形が生じていることが再確認された。過去の報告では、先天性あるいは幼少期の早い段階において、MPLに伴って大腿四頭筋が内側変位することにより生じる大腿骨遠位成長板への永続的な圧力が大腿骨の変形を引き起こすと推測されている(Hulse, 1981; Schulz, 2002)。本検討における測定結果は、このような仮説を支持するものであった。

MPLの原因のひとつとして、内反股や大腿骨頸部の前捻の関与が指摘されている(Singleton, 1969; Campbell & Pond, 1972; Hulse, 1981; Roush, 1993; Piermattei *et al.*, 2006; Kaiser *et al.*, 2001)。本検討では、三次元のCT画像で測定した全ての群において頸体角の減少は認められなかった。この結果は、いずれの重症度においても内反股は生じておらず、X線画像を用いた過去の報告と一致していた(Bound *et al.*, 2009; Mortari *et al.*, 2009; Soparat *et al.*, 2012)。前捻角は、大腿骨軸方向像における骨頸部の傾きを評価するための角度として報告されている(Nunamaker *et al.*, 1973)。本検討では、グレード4群においてのみ前捻角は有意な低値を示した。過去のX線画像を用いた報告においては、MPLと前捻角の関連性についての結論

は見出されていない (Campbell & Pond, 1972; Kaiser *et al.*, 2001)。近年では、CT や MRI を用いて前捻角を正確に評価できるようになったが、現在のところ MPL における有意な大腿骨頸部の前捻は報告されていない (Kaiser *et al.*, 2001; Towle *et al.*, 2005; Dudley *et al.*, 2006; Ginja *et al.*, 2007; Mostafa *et al.*, 2014)。X 線画像による前捻角の測定は、撮影ポジションによる影響を受けやすく、大腿骨遠位の外方捻転や大腿骨内側顆の低形成に影響を受ける (Kowaleski, 2006; Roch & Gemmill, 2008)。したがって、本検討では大腿骨軸に対する骨頸の傾きを正確に評価するために、新たに骨頭傾角を設定し三次元の CT 画像にて計測を行った。その結果、各群間で骨頭傾角に有意差は認められなかった。これらの結果より、大腿骨頸部の傾きも MPL の発生およびその重症度とは関連性が低いことが示唆された。

重度な MPL では、滑車溝の低形成が生じるとされている (Singleton, 1969; Hulse, 1981; Roush, 1993; Schulz, 2002; Piermattei *et al.*, 2006)。本検討では、グレード 4 群において SA の有意な高値が認められ、滑車溝の低形成が示唆された。さらに、MTI と LTI の測定結果より、内側稜の低形成が生じ、外側稜の低形成は生じていないことが明らかとなった。ヒトにおいて、TA は大腿膝蓋関節のアライメントおよび膝関節の疼痛と機能との関係を調べるために計測されている (Kalichman *et al.*, 2007)。本検討では、後顆軸に対する滑車の傾斜を調べる目的で TA を測定した。その結果、グレード 4 群においては滑車稜全域の低形成が示唆された。さらに、グレード 2 群においては、滑車溝近位のみ内側稜の低形成が生じていることが明らかになった。

これまで多くの成書では、重度な MPL の症例において、大腿骨内側顆の低形成が生じると記載されている (Hulse, 1981; Roush, 1993; Schulz, 2002; Piermattei *et*



al., 2006)。しかし、我々の知る限り、MPLに伴う大腿骨遠位部の形態を客観的に評価した報告は存在しない。本検討では、大腿骨顆の形態をより詳細に評価する目的で大腿骨遠位部を cranial、middle、caudal の3つの区画に分けて評価を行った。その結果、MC (p) /LC (p') と MCW/LCW では、各群間で有意差は認められなかった (表 2-3)。これらの結果は、caudal compartment の低形成が生じていないことを示唆するものであり、これまでの X 線画像による研究から得られた概念を覆す結果であった。その一方で、cranial および middle compartment と caudal compartment の形成比率を示す MC (a) /MC (p) と LC (a') /LC (p') は、他群に比較しグレード4群で低い傾向がみられた (表 2-3)。これらの結果より、グレード4のMPLの症例においては、cranial および middle compartment の低形成が主要な解剖学的異常であることが明らかとなった。さらに、内側の滑車溝関節面の傾きを示す MTI がグレード4群で有意な低値を示したことから、これらの解剖学的異常は外側よりも内側でより顕著であることが示唆された (表 2-3)。我々の知る限り、本検討は MPL に伴う大腿骨遠位部の形態異常を評価した初めての研究である。これまでは、成長期における滑車溝と膝蓋骨の適切な関節が滑車溝の深さにのみ影響を与えると考えられてきた (Schulz, 2002)。しかし、本検討で得られた所見から、滑車溝と膝蓋骨との適切な関節は、cranial compartment だけでなく、middle compartment の成長にも影響を与える可能性があることが示唆された。このようにグレード4のMPLの症例においては、cranial および middle compartment の低形成が生じているため、滑車溝造構術または深化術を実施する際には注意が必要である。

脛骨では、MPLの重症度が増すにつれて、脛骨近位の内旋変形、脛骨稜の内方

変位、脛骨近位 1/2 の外反変形が生じるとされている (Hulse, 1981 ; Schulz, 2002; Vasseur *et al.*, 2003; Piermattei *et al.*, 2006)。本検討では、グレード 4 群においてのみ脛骨の回旋変形の評価に用いた TTA の有意な高値が認められた。さらに、脛骨稜の内方変位を評価する MDTT/PTW もグレード 4 群においてのみ有意な低値を示した (表 2-4)。これらの結果より、グレード 4 の MPL の症例では、重度な脛骨近位の内旋変形と脛骨稜の内方への変位が生じていることが明らかとなった。その一方で、グレード 1 群からグレード 3 群の MPL の症例では、有意な骨変形は認められなかった。我々の知る限り、重度な MPL における脛骨の骨変形を客観的に評価したのは、本検討が初めてである。本検討では、三次元の CT 画像で測定した mMPPTA と mMDTA において、各群間で有意差は認められなかった。これらの結果は、MPL に伴う脛骨の骨変形において外反変形は生じていないことを示唆しており、過去の報告とは一致しなかった (Bound *et al.*, 2009)。また、三次元の CT 画像で測定したその他の測定項目である mCrPTA、TPA、mCrDTA、Z 角、rTTW においても、各群間で有意差は認められなかった (表 2-4)。したがって、MPL はいずれの重症度においても、脛骨稜の長軸方向の変位、脛骨高平部の角度、脛骨の前屈あるいは後屈といった変形は生じないことが示された。

我々の知る限り、MPL の症例におけるグレード別の膝蓋骨の形態を比較した報告は存在しない。本検討では、三次元の CT 画像で測定した膝蓋骨の厚みと容積は、グレード 4 群でのみ有意な低値を示した (表 2-5)。これらの結果より、膝蓋骨が滑車溝と適切に関節されない重度の MPL の症例においては、膝蓋骨の低形成が生じる可能性が示唆された。また、大型犬においては、膝蓋骨脱臼と膝蓋骨高位との関連性が報告されている (Johnson *et al.*, 2002)。本検討では、三次元の

CT 画像で測定した L:P 比を用いて、膝蓋骨の位置と MPL の関連性を調査したところ、L:P 比に各群間で有意差は認められなかった (表 2-5)。したがって、トイ・プードルにおいては、MPL の重症度と膝蓋骨高位との関連性は認められなかった。

現在までに MPL の病態発生において、軟部組織の異常が骨変形に関与しているという証拠は明確になっていない。従来から、MPL の外科的整復術は滑車溝の低形成や脛骨稜の内方変位といった骨形態の異常の改善に焦点が当てられてきた (Swiderski *et al.*, 2008)。しかし、本検討において三次元の CT 画像を用いた包括的な骨形態の解析を行った結果、重度な MPL における骨変形は大腿四頭筋群の起始部と終止部に沿って生じていた。したがって、これらの骨変形は大腿四頭筋群の内方変位による持続的な牽引によって引き起こされている可能性が示唆された。

本検討では、Singleton のグレード分類に基づき、単肢のみに着目してグレード分類を行った。しかし、MPL が認められない肢であっても、対側肢に MPL が存在している場合には、潜在的な骨変形が存在する可能性があるため、両側ともに MPL が認められない肢を正常群として採用した方が適切であったのかもしれない。

本検討の結果、重度な MPL では、大腿骨における内反変形と外方捻転、滑車溝の低形成、cranial および middle compartment の低形成、脛骨近位の内旋変形と脛骨稜の内方への変位、膝蓋骨の成長不良といった複合的な骨変形が生じることが明らかとなった。その一方で、MPL のグレードが 3 以下の症例では、正常例と比較して有意な骨変形は認められなかった。本検討では、三次元の CT 画像を用いることにより、MPL の重症度と骨変形の関係について詳細なデータを得ること

ができた。本検討は、MPL の病態生理の理解に貢献する重要な知見を得ることができた。

### 第三章

病理学および分子生物学的手法を用いた  
膝蓋骨内方脱臼の病態メカニズムの解析

### 3.1. 緒言

重度な膝蓋骨内方脱臼（MPL）の犬で生じる骨変形は、大腿四頭筋群の持続的な牽引に起因する可能性が第二章にて示されたが、我々の知る限り、これらの関係について検討した報告は未だ存在しない。実際、MPLの整復術中に大腿四頭筋群のひとつである内側広筋のみに過度な緊張が生じていたり、肉眼上の異常を認めたりすることは少なくない。内側広筋は、膝関節安定化機構のひとつであり、その異常は膝蓋骨の内方への変位を引き起こす可能性がある。したがって、大腿四頭筋群の中でも内側広筋の異常がMPLの病態の鍵を握っていると考えている。

臨床的に筋肉の異常の有無を診断する際には、コンピューター断層撮影装置（CT）や磁気共鳴断層撮影装置（Magnetic resonance imaging : MRI）が用いられてきた（Gargiulo *et al.*, 2008; Hamano *et al.*, 2010; Preininger *et al.*, 2011）。人医領域においては、近年の著しい技術開発により超音波診断装置によって高分解能の画像が容易に得られるようになり、超音波検査による筋肉の評価が行われ始めている（Scott *et al.*, 2012; Thomaes *et al.*, 2012）。しかし、獣医学領域においては、超音波診断装置による整形外科疾患の診断は広く普及しておらず、超音波診断装置を用いてMPLの症例における膝関節周囲の筋肉を評価した報告は存在しない。

MPLの病態メカニズムのひとつとして筋肉の異常が関与していることを明らかにするためには、病理組織学的検査や分子生物学的解析を行うことも不可欠である。人医学領域においては、骨格筋萎縮の病態を解明するため、もしくは治療法を新規に開発するために病理組織学的検査や分子生物学的解析が行われている（Bodine *et al.*, 2001; Sandri *et al.*, 2004; McFarlane *et al.*, 2006）。しかし、我々の知る限り、犬のMPLの原因を追求するために、筋肉の異常に焦点を当てて検討を

行った報告は存在しない。

そこで、本章では MPL 罹患犬の膝関節周囲の筋肉において超音波検査を実施し、スクリーニングを行うことで異常な筋肉を同定した。次いで、同一症例において術中に内側広筋を採取し、その一部を用いて病理組織学的検査を実施した。さらに、一部の重度な MPL 症例の内側広筋から採取した mRNA を用いてマイクロアレイを行い、その発現を網羅的に解析した。これらのマイクロアレイによる解析結果をもとに、内側広筋の異常に関係する遺伝子を推測し、Real time PCR にて候補遺伝子の発現量を定量的に評価することで MPL の病態メカニズムの解明を試みた。

## 3.2. 材料および方法

### 3.2.1. 対象症例

本検討では、2012年4月から2015年10月までの期間に、日本大学動物病院で触診にてMPLと診断し、外科的整復術を実施した犬を対象とした。MPLの重症度分類には、Singletonのグレード分類を用い、グレード1から4に分類した（表1-1）（Singleton, 1969）。

### 3.2.2. 超音波検査

超音波検査は、全例で手術前日に無麻酔で実施した。超音波検査には、超音波診断装置（Aplio 400 TUS-A400, 東芝メディカルシステムズ（株）, 大田原, 栃木）を使用した。プローブは、12.0MHzのリニア型プローブを使用し、プリセットされているNeo-Hip条件に設定し、Bモードにて各筋肉の長軸に対して垂直にプローブを当てることにより、膝関節周囲の筋肉の評価を行った。まずは、全例で縫工筋、大腿直筋、内側広筋、外側広筋、中間広筋の描出の可否を評価した。さらに、縫工筋の輝度を基準として大腿直筋、内側広筋、外側広筋、中間広筋の輝度を、正常、低輝度、高輝度に分類した。

### 3.2.3. 病理組織学的検査

超音波検査を実施した全例において翌日手術を実施し、術中に離断した内側広筋の一部を採取した。採取した内側広筋の一部を10%中性緩衝ホルマリンで固定後にパラフィン包埋し、横断面にて5 $\mu$ mで薄切した。標本の染色には、Hematoxylin-Eosin（HE）染色を行い、特殊染色としてMasson trichrome（MT）染



色を実施した。

HE 染色は、標本を脱パラフィン処理した後に水洗し、Hematoxylin 液にて核を染色し、Eosin 液にて細胞質などの染色を行った。次いで、純エタノールにて脱色および脱水を行い、キシレンを用いて透徹処理をした。

MT 染色は、標本を脱パラフィン処理した後に、媒染、ワイトゲルトの鉄ヘマトキシリン液による染色、媒染を順に行った。次いで、1%オレンジ G 液、ポンソ、リントングステン酸水溶液、アニリン青の順に染色を行った。さらに、純エタノールにて脱色および脱水を行い、キシレンを用いて透徹処理をした。

HE 染色では、筋肉の基本構造、筋線維の大小不同、核の変化、壊死と再生像、筋線維内の空胞形成の有無について評価した。また、筋束内における脂肪置換と間質内への脂肪細胞の浸潤の有無についても評価を行った。筋束内における脂肪置換の程度は、筋線維の本数に対する脂肪細胞の割合を算出することにより評価した。また、MT 染色では、青染された膠原線維の有無により、間質内への膠原線維の浸潤について評価した。

### 3.2.4. 分子生物学的解析

#### 3.2.4.1. Total RNA の抽出

採取した内側広筋の一部に TRIzol<sup>®</sup> Reagent (ライフテクノロジーズ (株), 東京) を 1,000 $\mu$ l 加えて筋組織を破碎し、クロロホルムを 200 $\mu$ l 混じた後に激しく攪拌して室温にて 3 分間静置した。次いで、4 $^{\circ}$ C、12,000G で 15 分間遠心分離を行い、上清の水層を 180 $\mu$ l 分注した。それから、同量のイソプロパノールを混和し、室温にて 10 分間静置した。さらに、4 $^{\circ}$ C、12,000G で 10 分間遠心分離を行った後

に、沈渣を回収した。得られた沈渣を 1,000 $\mu$ l の 75%エタノールで洗浄し、風乾させた後に 20 $\mu$ l の RNase free water にて溶解し、吸光光度計 (NanoDrop 1000, エル・エム・エス (株), 東京) にて total RNA の濃度を測定した。

#### 3.2.4.2. マイクロアレイによる遺伝子発現解析

マイクロアレイによる遺伝子発現の解析には、一部の重度なMPLの症例の縫工筋と内側広筋から抽出したmRNAを使用した。マイクロアレイには、43,803種類の遺伝子および転写産物を搭載したCanine (V2) Gene Expression Microarray, 4x44K (Agilent technologies, California, USA) を使用し、mRNAの発現量を網羅的に解析した。各操作は全てAgilent社のプロトコルに従って行った。各50ngのtotal RNA からLow Input Quick Amp Labeling Kit (Agilent technologies, California, USA) を用い、増幅およびラベル化を行ってcRNAを調製し、ハイブリダイゼーションおよび洗浄を行った。洗浄後のマイクロアレイからAgilent scanner (Agilent technologies, California, USA) を用い、蛍光強度の測定を行った。Agilent Feature Extraction Software (9.5.1.1) (Agilent technologies, California, USA) を用いて得られた蛍光強度のデータの数値化を行った後、Low signal intensitieとFlagを算出した。Flagの基準には、GeneSpring Software (Agilent technologies, California, USA) を使用し、シグナルが検出されなかったスポットをAbsent (A)、スポットの品質が低いスポットをMarginal (M)、シグナルが検出されたスポットをPresent (P) とした。得られた全てのアレイデータは、quantileアルゴリズムを用いて正規化を行った (Bolstad *et al.*, 2003; Gentleman *et al.*, 2004)。内側広筋の遺伝子発現の変動解析は、ratioおよびZ-scoreを算出することによって行った (Quackenbush, 2002)。

本検討では、Z-scoreが2.0以上かつratioが2.0以上である場合を遺伝子発現量の有意な増加、Z-scoreが-2.0未満かつratioが0.5以下である場合を遺伝子発現量の有意な減少とした (Quackenbush, 2002)。

#### 3.2.4.3. 発現変動遺伝子の抽出

マイクロアレイの結果をもとに解析ソフト (DAVID, National Institute of Allergy and Infectious Diseases) を用いて機能解析、パスウェイ解析、ヒートマップの作成を行い、mRNA の発現傾向を確認した。さらに、パスウェイ解析において5つ以上の遺伝子の発現強度の変動が認められた経路を選択し、マイクロアレイの結果を検証するために Real time PCR にて確認を行った。

#### 3.2.4.4. Real time PCR

前述した total RNA から一本鎖 DNA を合成するために、AmpliTaq Gold<sup>®</sup> 360 Master Mix (ライフテクノロジーズ (株), 東京) を用いて逆転写反応を行った。氷上にて1,000ng の total RNA に反応液を加え、37°C15 分間、85°C5 秒間にて cDNA を合成した。

Real time PCR の反応液には SYBR<sup>®</sup> Premix Ex<sup>™</sup> Taq (タカラバイオ (株), 滋賀) を用い、Real time PCR には Thermal Cycler Dice<sup>®</sup> Real Time System II (タカラバイオ (株), 滋賀) を使用した。本検討で Real time PCR に用いたプライマーは、犬の RefSeq 登録遺伝子に対して設計および合成されたものを使用した。PCR 反応は、95°Cで30秒間の熱変性を行った後に、95°Cで5秒間、60°Cで30秒間のサイ

クルを 45 回行った。本検討では、Real time PCR を行うにあたり、対照として MPL を含めた整形外科疾患を認めないビーグル犬 ( $n = 3$ ) から採取した内側広筋を使用した。内部標準遺伝子には、ribosomal protein S18 (*RPS18*) を用いた。定量的解析には、相対定量解析ソフトウェア (Multiplate RQ, タカラバイオ (株), 滋賀) を使用し、比較 Ct 法 ( $\Delta \Delta Ct$  法) にて各遺伝子の相対発現比を算出した。

#### 3.2.4.5. 統計学的解析

本検討における測定結果は、平均値±標準偏差(SD)で算出した。統計解析には、統計処理ソフト (GraphPad Prism version 6.0 for Macintosh, GraphPad Software Inc., San Diego, USA) を使用した。各群間の比較には、Kruskal-Wallis 検定を用い、事後比較には、Dunn's 多重比較検定を使用した。 $P < 0.05$  をもって有意差ありと判定した。

### 3.3. 結果

#### 3.3.1. 対象症例

調査期間中に、本検討に該当した症例は 11 頭、合計 15 肢であった。犬種は、チワワが 3 頭、トイ・プードルが 3 頭、イタリアン・グレイハウンド、キャバリア・キングチャールズ・スパニエル、パピヨン、ポメラニアン、雑種がそれぞれ 1 頭であった（表 3-1）。これらの犬の年齢は、9 ヶ月齢から 6 歳齢で、平均  $2.0 \pm 2.4$  歳齢であった。体重は、1.9kg から 7.8 kg で、平均  $4.1 \pm 1.9$ kg であった。性別は、雄が 2 頭、去勢雄が 1 頭、雌が 2 頭、不妊雌が 6 頭であった。本検討に用いた後肢の各グレードの内訳は、グレード 2 群が 5 肢、グレード 3 群が 4 肢、グレード 4 群が 3 肢、グレード 4 群が 6 肢であった。

#### 3.3.2. 超音波検査

超音波検査では、全症例で縫工筋、大腿直筋、内側広筋、外側広筋、中間広筋をそれぞれ描出することが可能であった（表 3-2）。MPL 罹患犬では、内側広筋に集中して超音波検査にて異常が認められ、特にグレード 4 群では全症例において内側広筋が高輝度を呈していた（表 3-2, 図 3-1）。また、本検討において各々の筋肉において低輝度を呈していた症例は 1 例も認められなかった。

#### 3.3.3. 病理組織学的検査

病理組織学的検査において、内側広筋の筋組織の構造の異常はグレード 4 群で顕著であった（表 3-3, 図 3-2A）。各群において、筋線維の大小不同、核の変化、壊死および再生像、空胞形成の有無を評価したところ、MPL の重症度が増すにつ

れて筋線維の大小不同が顕著に認められた (図 3-2B)。その一方で、核の変化、壊死・再生像、筋線維内の空胞形成はいずれの群においても認められなかった。

筋束内の脂肪置換の発生率は、各群で同様の傾向を示した。しかし、筋束内の脂肪細胞の数は、MPL の重症度が増すにつれて増加する傾向が認められた (表 3-4) (図 3-2C, D)。

筋束間の間質を評価したところ、MPL の重症度が増すにつれて脂肪浸潤と膠原線維の浸潤が顕著化する傾向を示し、グレード 4 群では全症例において異常を呈した (表 3-4) (図 3-2E, F)。

本検討においては、神経原性筋萎縮を示す群萎縮や小角化線維はいずれの群においても認められなかった。グレード 4 群の症例においては、筋束内の脂肪置換と間質への膠原線維の浸潤により、筋線維がほとんど認められない症例も存在した。このような内側広筋の異常に対する超音波検査の診断精度は、感度 72.7%、特異度 50.0%であった。

#### 3.3.4. マイクロアレイ

マイクロアレイにより発現変動遺伝子を網羅的に解析したところ、解糖系およびアディポサイトカインシグナル伝達経路において、複数の遺伝子に有意な発現強度の変動が認められた (図 3-3, 3-4)。さらに、ヒトで筋萎縮の経路として注目されている FOXO シグナル伝達経路においても複数の遺伝子に有意な発現強度の変動が認められた (図 3-5)。

#### 3.3.5. Real time PCR

マイクロアレイの解析結果およびヒトで筋萎縮の原因として報告のある遺伝子に着目し (Sandri *et al.*, 2004; Stitt *et al.*, 2004; MacFarlane *et al.*, 2006)、解糖系に関与する *PGMI*、*PFKM*、*GAPDHS*、*PGAM2* および *FOXO* シグナル伝達経路に関与する *IGF1*、*AKT3*、*FOXO1*、*PPARGC1A*、*FBXO32* に対しての Real time PCR を行った (表 3-5)。グレード 4 群の症例においては、今回検討した全ての解糖系に関する mRNA の発現量が低い傾向が認められた (図 3-6)。これらの中で、*PGAM2* の発現量はグレード 4 群で有意な低値を示した (図 3-6)。また、*FOXO* シグナル伝達経路においては、*IGF1*、*AKT3*、*FOXO1*、*FBXO32* の発現量に各群間で有意差は認められなかった (図 3-7)。その一方で、グレード 4 群においては、*PPARGC1A* の発現量が正常群に比較し有意な低値を示した。

表 3-1 膝蓋骨内方脱臼に罹患した犬の症例データ

	犬種	年齢	体重	性別	MPL のグレード	
					左	右
1	チワワ	6 歳齡	5.1kg	雄	グレード 2	グレード 2 <sup>†</sup>
2	チワワ	5 歳齡	3.7kg	雄	グレード 2 <sup>†</sup>	グレード 3 <sup>†</sup>
3	チワワ	1 歳齡	3.2kg	雌	グレード 2 <sup>†</sup>	グレード 2
4	トイ・プードル	1 歳齡	4.2kg	不妊雌	グレード 3 <sup>†</sup>	グレード 2 <sup>†</sup>
5	トイ・プードル	1 歳齡	2.3kg	不妊雌	グレード 4 <sup>†</sup>	グレード 4 <sup>†</sup>
6	トイ・プードル	9 ヶ月齡	4.2kg	不妊雌	グレード 4 <sup>†</sup>	グレード 2
7	イタリアン・グレイハウンド	1 歳齡	7.0kg	去勢雄	グレード 3 <sup>†</sup>	正常
8	キャバリア・キングチャールズ・スパニエル	6 歳齡	7.8kg	不妊雌	正常	グレード 4 <sup>†</sup>
9	パピヨン	10 ヶ月齡	3.2kg	不妊雌	グレード 4 <sup>†</sup>	グレード 2 <sup>†</sup>
10	ポメラニアン	1 歳齡	2.3kg	不妊雌	グレード 2	グレード 4 <sup>†</sup>
11	雑種	10 ヶ月齡	1.9kg	雌	グレード 2	グレード 2 <sup>†</sup>

† : 超音波検査・手術・病理組織学的検査・分子生物学的解析を行った肢



表 3-2 超音波検査による膝関節周囲の筋肉の評価結果

	大腿直筋		内側広筋		外側広筋		中間間筋	
	正常	高輝度	正常	高輝度	正常	高輝度	正常	高輝度
グレード2群	100% (5/5 肢)	0.0% (0/5 肢)	40.0% (2/5 肢)	60.0% (3/5 肢)	100% (5/5 肢)	0.0% (0/5 肢)	100% (5/5 肢)	0.0% (0/5 肢)
グレード3群	100% (4/4 肢)	0.0% (0/4 肢)	100% (4/4 肢)	0.0% (0/4 肢)	100% (4/4 肢)	0.0% (0/4 肢)	100% (4/4 肢)	0.0% (0/4 肢)
グレード4群	83.3% (5/6 肢)	16.7% (1/6 肢)	0.0% (0/6 肢)	100% (6/6 肢)	83.3% (5/6 肢)	16.7% (1/6 肢)	66.7% (4/6 肢)	33.3% (2/6 肢)

表 3-3 膝蓋骨内方脱臼に罹患した犬の重症度ごとの筋線維の病理組織学的検査所見

	構造の異常	筋線維の評価			
		筋線維の大小不同	核の変化	壊死・再生像	空胞形成
グレード 2 群	20.0% (1/5 肢)	60.0% (3/5 肢)	0.0% (0/5 肢)	0.0% (0/5 肢)	0.0% (0/5 肢)
グレード 3 群	25.0% (1/4 肢)	75.0% (3/4 肢)	0.0% (0/4 肢)	0.0% (0/4 肢)	0.0% (0/4 肢)
グレード 4 群	66.7% (4/6 肢)	100.0% (6/6 肢)	0.0% (0/6 肢)	0.0% (0/6 肢)	0.0% (0/6 肢)

74

表 3-4 膝蓋骨内方脱臼に罹患した犬の重症度ごとの筋束内および間質の病理組織学的検査所見

	筋束内の評価		間質の評価	
	脂肪置換	筋線維数に対する脂肪細胞数の割合	脂肪浸潤	膠原線維の浸潤
グレード 2 群	80.0% (4/5 肢)	1.9 ± 1.6	40.0% (2/5 肢)	40.0% (2/5 肢)
グレード 3 群	75.0% (3/4 肢)	2.0 ± 1.7	75.0% (3/4 肢)	75.0% (3/4 肢)
グレード 4 群	83.3% (5/6 肢)	6.0 ± 5.9	100.0% (6/6 肢)	100.0% (6/6 肢)

表 3-5 Real time PCR に使用したプライマー

蛋白	遺伝子	方向性	塩基配列 (5'-3')	Tm 値 (°C)
PGM	<i>PGMI</i>	F	TTTGCCCTGACCTGAAAGTAGACC	64.8
		R	TGTAGCATAAGCCTCCACTGAATCC	64.7
PFKM	<i>PFKM</i>	F	TGTGACCAAGGCCATGAATGA	64.7
		R	GGAGGTCTGATGTGAGCCAGAAG	64.7
GAPDHS	<i>GAPDHS</i>	F	AGCAATGCATCCTGCACCAC	64.5
		R	ATGGCCCGTCCACAGTCTTC	64.7
PGAM	<i>PGAM2</i>	F	GCATTGTCAAGCACCTGGAAG	63
		R	GCCTGGTCCAGCTCATAAC	60.7
IGF-1	<i>IGF1</i>	F	GATAGAGCCTGCGCAATGGAA	64.7
		R	CTGGAAATGAATTGGTTAGCAGGAA	64.5
Akt	<i>AKT3</i>	F	TCCCTGTTGGACACTGCTGA	62.9
		R	TCATAGAGCCTGTAAGCGACCTTG	64
FOXO	<i>FOXO1</i>	F	GCATGTTTATTGAGCGCTTGGA	64.5
		R	CCCAGCTATGTGTCGTTGTCTTG	64.1
PGC-1 $\alpha$	<i>PPARGC1A</i>	F	AGCACTTCGGTCATCCCAGTC	63.8
		R	TGTCATCAAACAGGCCATCCA	64.7
atrogin-1	<i>FBXO32</i>	F	TCGGCAAGTCTGTGCTGGTC	64.9
		R	CACAAAGGCAGGTCGGTGAA	64.5
RPS18	<i>RPS18</i>	F	ATAGCCTTTGCCATCACAGCAATTA	64.9
		R	TTGGTGAGATCGATGTCTGCTTTC	64.9

F : Forward, センスプライマー

R : Reverse, アンチセンスプライマー

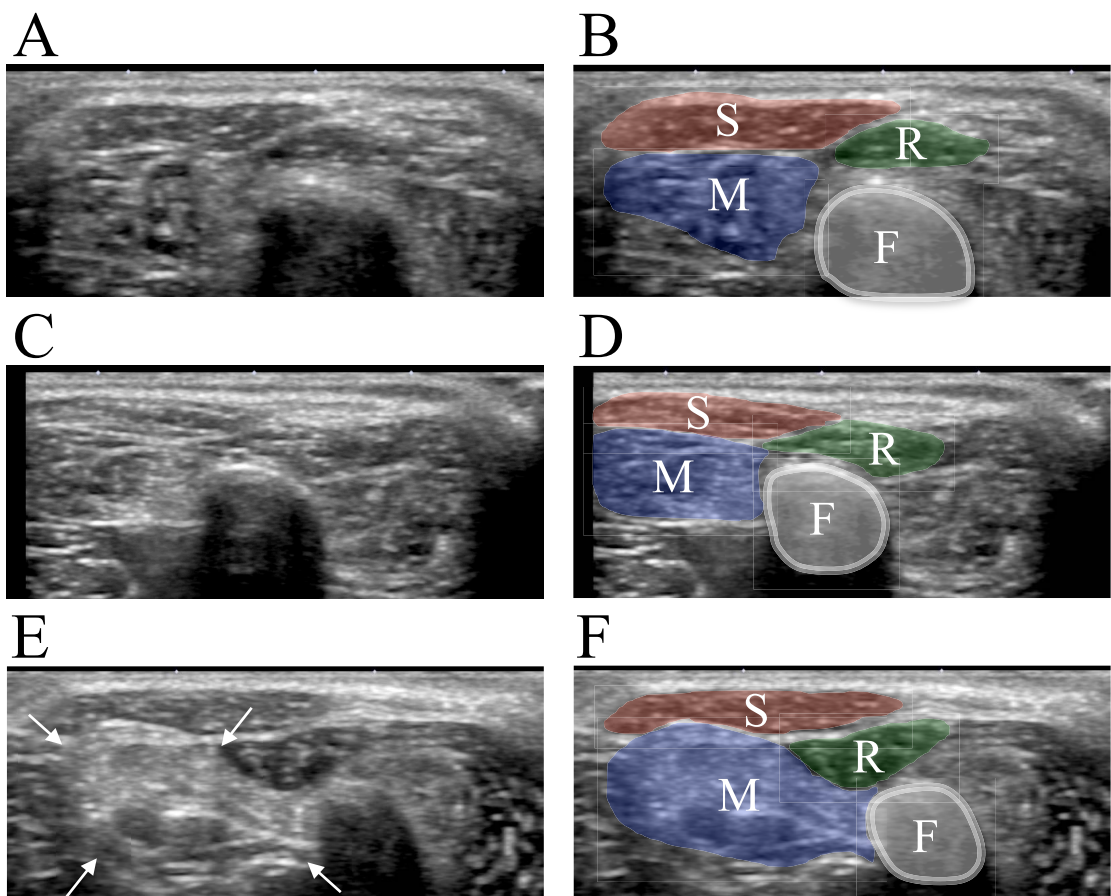


図 3-1 膝蓋骨内方脱臼症例の各グレードにおける膝関節周囲の超音波画像  
 A, B : グレード2、C, D : グレード3、E, F : グレード4  
 F : 大腿骨、S : 縫工筋、R : 大腿直筋、M : 内側広筋  
 グレード4の内側広筋において高輝度の所見が認められる（白矢印）。

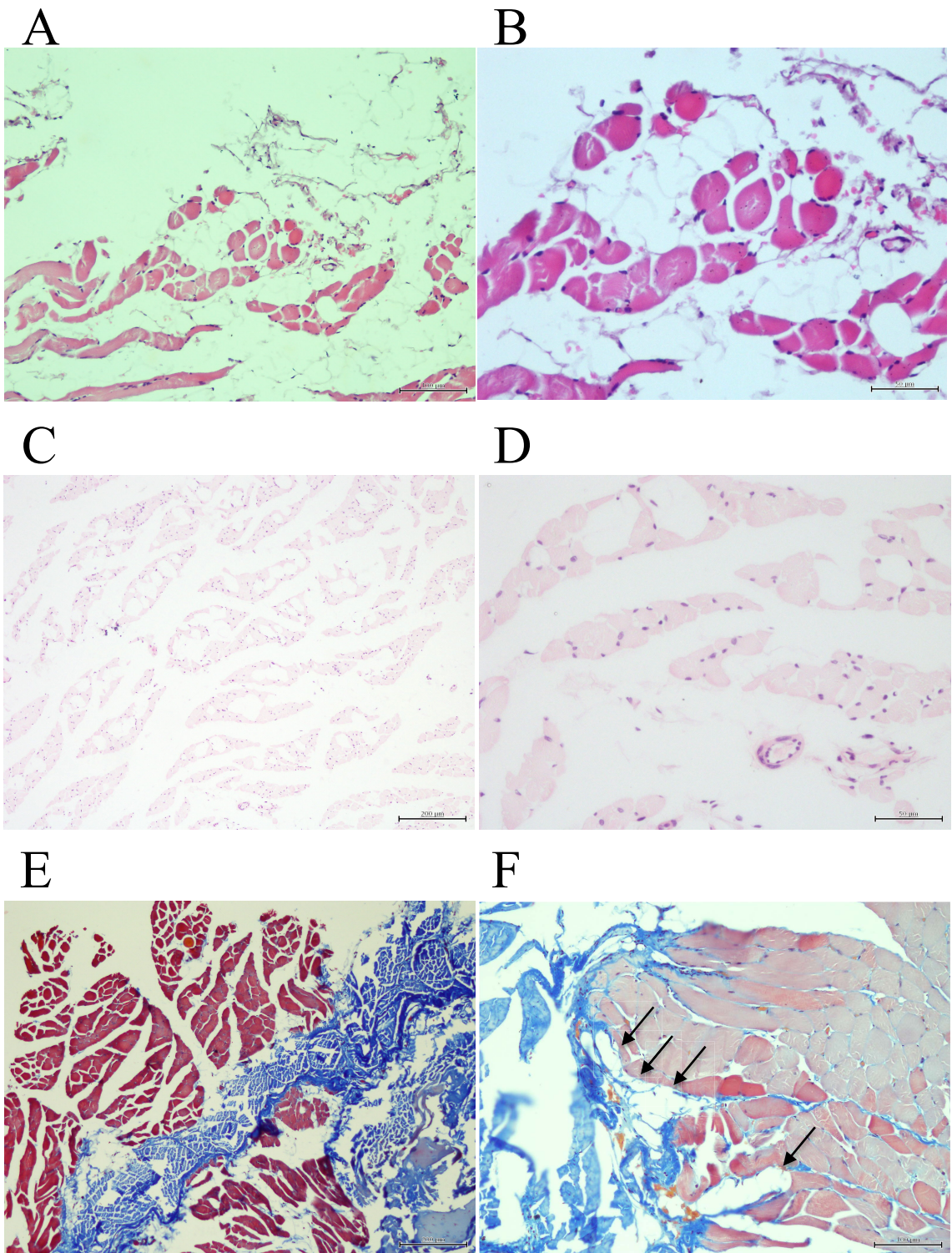


図 3-2 膝蓋骨内方脱臼に罹患した症例における病理組織学的検査所見  
 A：構造の異常 B：筋線維の大小不同 C，D：筋束内での脂肪置換  
 E：膠原線維の浸潤 F：間質への脂肪浸潤（黒矢印：脂肪細胞）

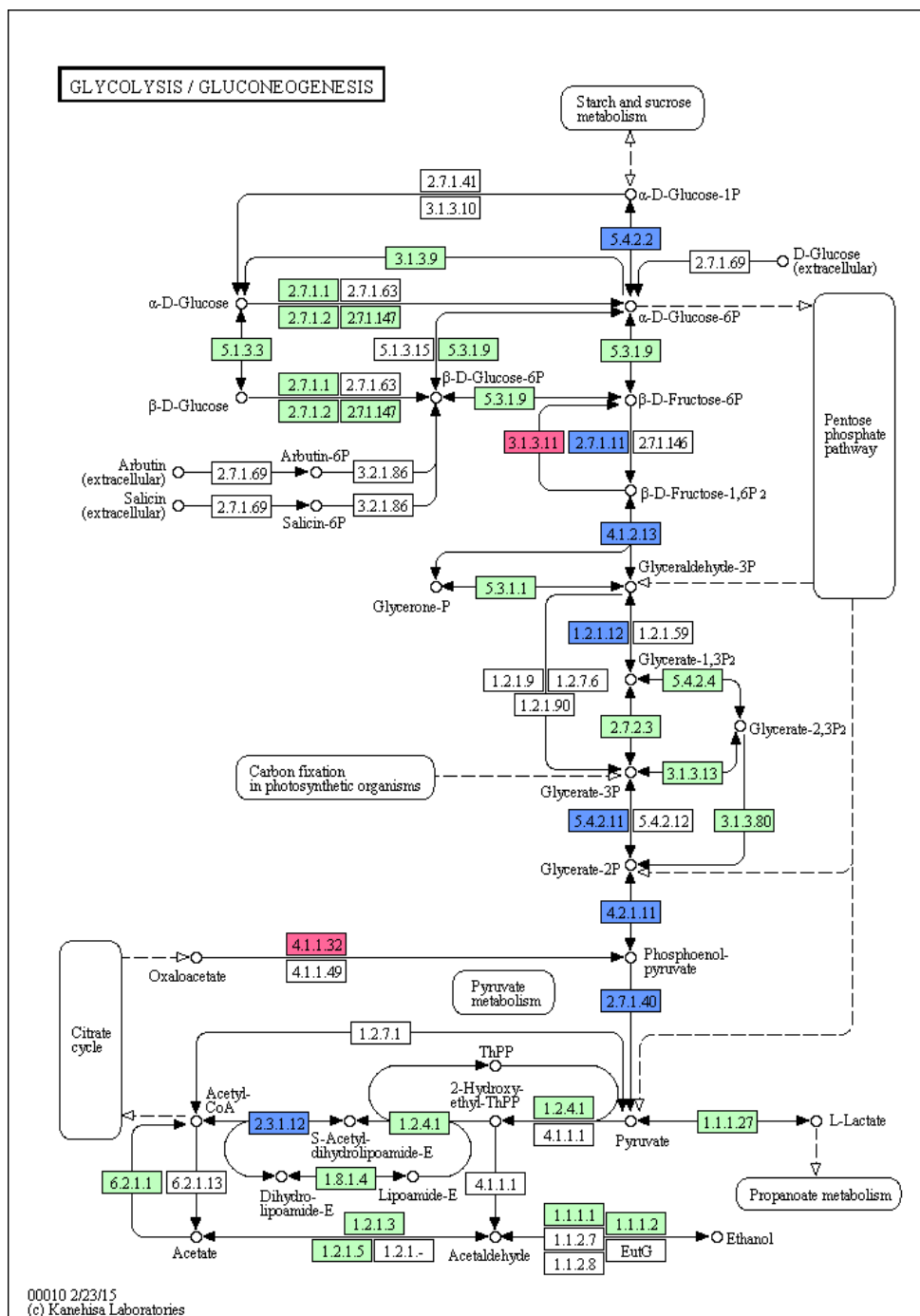


図 3-3 解糖系および糖新生の経路

遺伝子発現量の有意な増加：赤色、遺伝子発現量の有意な減少：青色

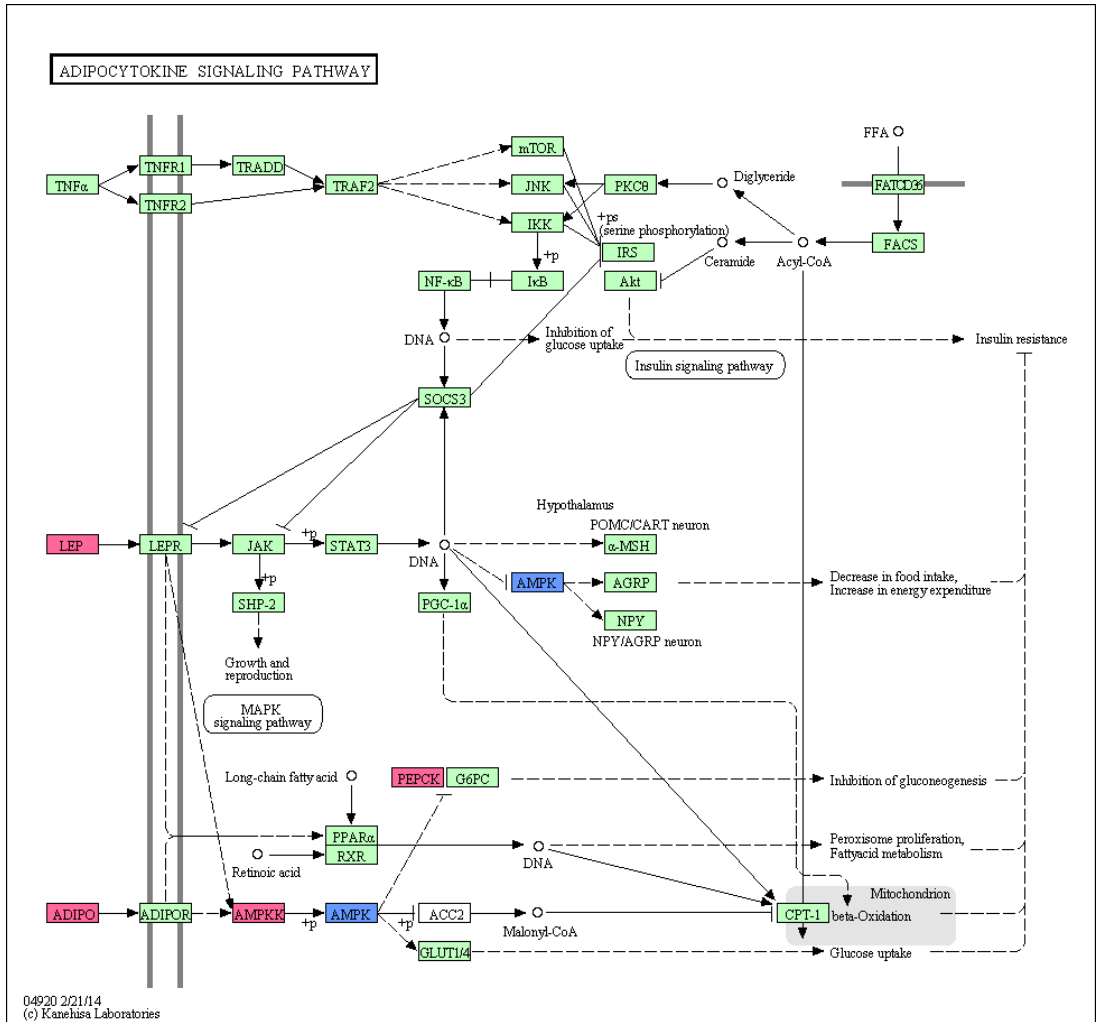


図 3-4 アディポサイトカインシグナル伝達経路

遺伝子発現量の有意な増加：赤色、遺伝子発現量の有意な減少：青色

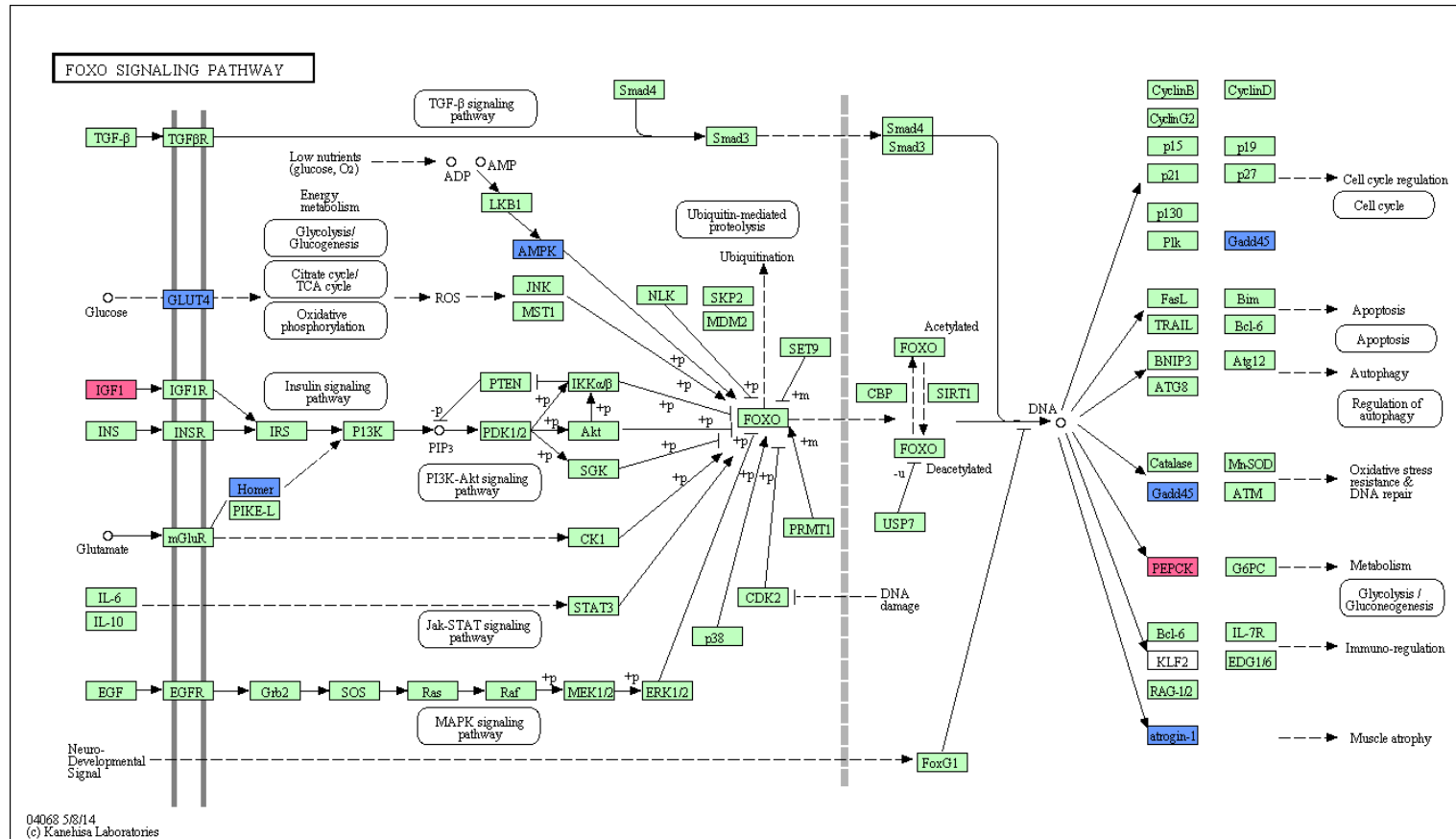


図 3-5 FOXO シグナル伝達経路

遺伝子発現量の有意な増加：赤色、遺伝子発現量の有意な減少：青色



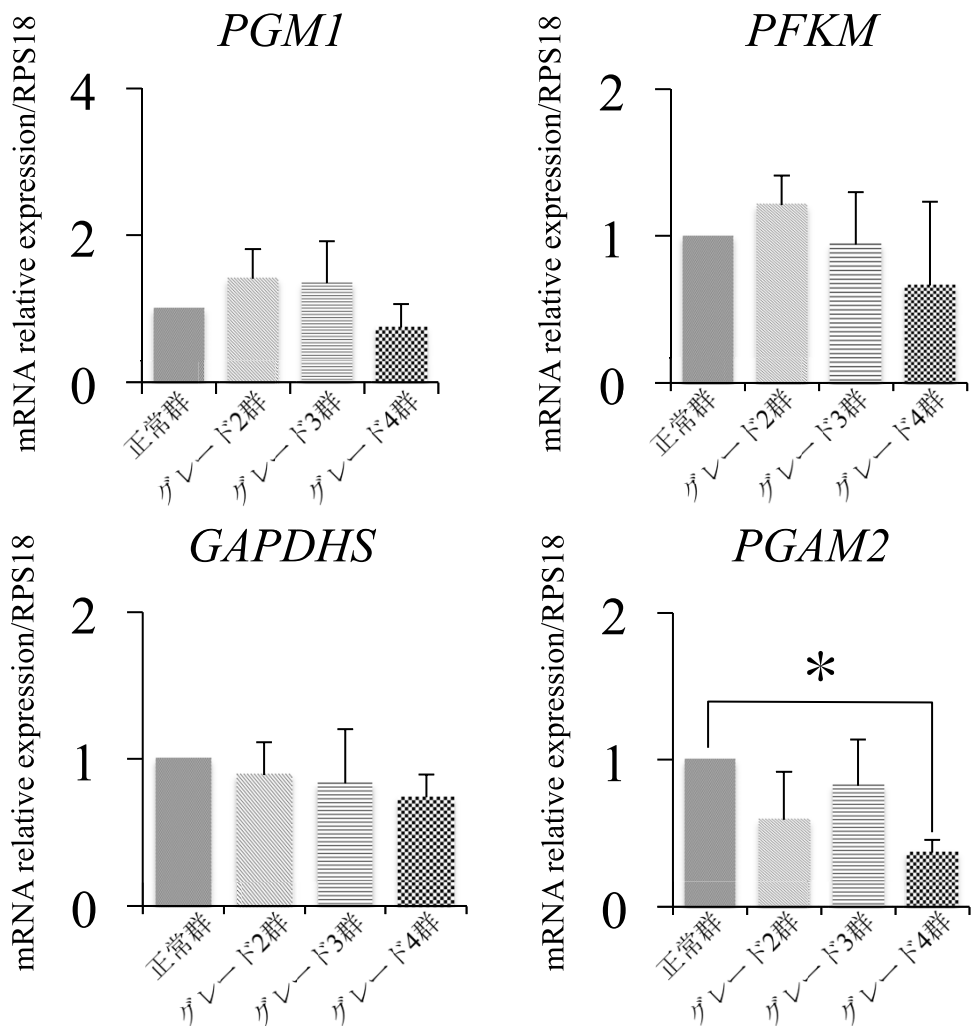


図 3-6 解糖系に関するmRNA発現量の比較

グレード4群の症例においては、今回検討したすべての解糖系に関するmRNAの発現量が低い傾向がみられた。これらの中で、*PGAM2*の発現量はグレード4群で有意な低値を示した。

\* : 統計学的な有意差あり ( $P < 0.05$ )

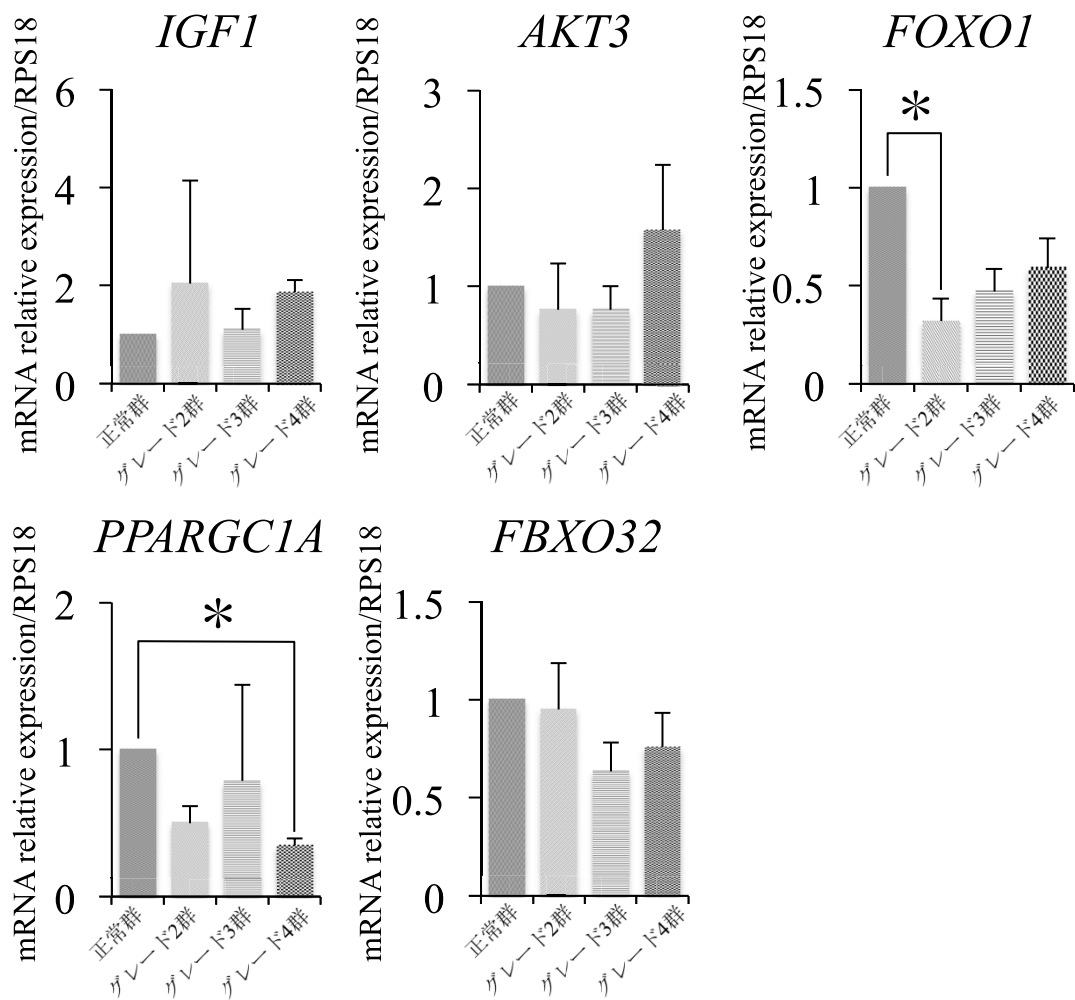


図 3-7 FOXOシグナル伝達経路に関するmRNA発現量の比較  
*PPARGC1A*の発現量はグレード4群で有意な低値を示した。

\* : 統計学的な有意差あり ( $P < 0.05$ )

### 3.4. 考察

本検討では、MPL 罹患犬において超音波検査を行うことにより、内側広筋の異常をある程度把握することが可能であった。MPL の症例において、病理組織学的検討を行ったところ、内側広筋に明らかな異常が認められ、これらの筋萎縮は神経原性筋萎縮でないことが初めて明らかになった。さらに、MPL の重症例では、骨格筋の糖代謝および筋萎縮に関与する mRNA の発現に有意な変化が認められ、分子生物学的にも内側広筋に変化が生じていることが示唆された。

本検討では、膝関節周囲の筋肉のスクリーニング検査として超音波検査を実施した。その結果、超音波検査にて、縫工筋、大腿直筋、内側広筋、外側広筋、中間広筋の全てを描出可能であり、さらに MPL の重症例においては、内側広筋に異常所見が集中していることが示唆された。これまで、ヒトにおいては骨格筋の筋萎縮の評価に超音波検査が行われてきたが、近年では筋内脂肪増加の評価方法として筋肉の輝度の評価が注目されている (Ismail *et al.*, 2015)。筋肉の輝度の上昇は、筋内脂肪の増加を示し、脂肪浸潤を伴う骨格筋の筋萎縮の指標として使用されている (Ismail *et al.*, 2015)。そこで、本検討では MPL に罹患した犬において膝関節周囲の筋肉の異常を超音波検査で捉えられるか否かを検討し

たところ、病理組織学的検査において認められた内側広筋の異常に対する超音波検査の診断精度は、感度 72.7%、特異度 50.0%であった。本検討では、グレード 4 群において、全例で超音波検査所見の異常と病理組織学検査の異常が一致したが、グレード 2 群またはグレード 3 群の症例においては偽陽性と偽陰性の症例が存在した。術前の超音波検査において筋肉の病理組織学的な異常を的確に検出できるか否かについては、今後さらに症例数を増やして検討を行う必要がある。

本検討では、病理組織学的検査において、MPL の重症度が増すにつれて筋線維の大小不同が認められたことから、筋萎縮が生じていることが明らかとなった。骨格筋の筋萎縮は、廃用性筋萎縮、筋原性筋萎縮、神経原性筋萎縮に大きく分類される（松井，2008）。本検討の病理組織学的検査では、いずれの群においても群萎縮や小角化線維は認められなかったことから、内側広筋で認められた筋萎縮は神経原性ではないことが明らかになった。しかし、本検討の結果のみでは MPL の症例において認められた内側広筋の筋萎縮が、廃用性かあるいは筋原性であるかの鑑別を行うことはできなかった。

重度な MPL の犬では、筋線維における核の変化、壊死および再生像、空胞形

成が認められなかったのに対し、筋束間の間質においては脂肪細胞の浸潤や膠原線維の浸潤が高率で認められた。一般的に、組織に壊死が生じると、好中球やマクロファージによって貪食分解され吸収される。そして、壊死巣周囲からは線維芽細胞や血管が侵入し、膠原線維の増生によって壊死部が置換されて瘢痕化する（中山, 2008）。しかし、重度な MPL の犬では、そのような病理学的変化を示唆する所見は認められなかった。したがって、MPL で生じる内側広筋の異常は、組織への傷害とは異なる病態である可能性が示唆された。

これまでに、犬で筋肉に異常が生じる疾患として、薄筋、半腱様筋、棘上筋、棘下筋の拘縮が報告されている（Lewis *et al.*, 1997; Devor *et al.*, 2006）。Lewis らは、薄筋または半腱様筋に拘縮が認められた犬 18 頭において病理組織学的検査を実施したところ、肉眼的に異常が認められた部位の筋線維が線維性結合組織に置換されていたと報告している（Lewis *et al.*, 1997）。その一方で、棘上筋または棘下筋の拘縮においては、病理組織学的検査にて、出血、変性、萎縮、線維化が認められており、外傷性変化である可能性が指摘されている。本検討で認められた重度な MPL の症例における病理組織学的検査所見は、いずれの報告とも一致しなかった。したがって、重度な MPL で生じる内側広筋の異常は、これ

らの筋疾患とも異なる病態である可能性が高い。

重度な MPL の症例に対して、マイクロアレイによる発現変動遺伝子の網羅的解析を行ったところ、解糖系、アディポサイトカインシグナル伝達経路、FOXO シグナル伝達経路において複数の遺伝子に有意な発現強度の変動が認められた (図 3-3, 3-4, 3-5)。これらの結果を検証するために Real time PCR を行ったところ、グレード 4 群の症例において、解糖系の mRNA 発現量の低下と筋萎縮に関連する *PPARGC1A* の発現量の有意な低下が認められた。解糖系における mRNA 発現量の低下は、マイクロアレイの解析結果を完全に裏付ける結果であった。骨格筋の収縮活動は、解糖系の酵素活性を誘発し、糖代謝に関わる酵素と輸送体の遺伝子発現を増加させると報告されている (Pinheiro *et al.*, 2010)。本検討の結果は、内側広筋の収縮活動の低下に伴う解糖系の酵素活性の低下を反映していたかもしれない。しかし、病理学的検査で認められた筋肉の異常は糖代謝の低下によって引き起こされた可能性も否定できない。PGC-1 $\alpha$  は、細胞核の活性化補助因子であり、代謝とエネルギーの恒常性を調整する経路に関与する重要な調節因子である (Ichida *et al.*, 2002)。ヒトでは、骨格筋における PGC-1 $\alpha$  発現量の増加は、エネルギー消費量を増加させ、骨格筋の代謝や熱産生に関

与するとされている (Boström *et al.*, 2006)。また、PGC-1 $\alpha$  はミトコンドリアの生合成および活性化にも関与し、筋萎縮を抑制する作用を持つことが報告されている (Sandri *et al.*, 2004)。したがって、PGC-1 $\alpha$  発現量の減少は、骨格筋の代謝の低下を引き起こし、結果として筋萎縮を引き起こす可能性がある。すなわち、本検討における *PPARGCIA* の発現量の有意な低下は、内側広筋の萎縮と関連していた可能性が高い。しかし、*PPARGCIA* の発現量の変化が MPL の原因となったのか、結果として生じたのかを明らかにするためには、さらなる検討が必要である。

本検討の結果、超音波検査によって内側広筋の異常をある程度把握することが可能であった。病理組織学的検査では、MPL のグレードが重症化するに伴い内側広筋に多くの病理組織学的な異常が認められた。MPL の症例の内側広筋で生じている変化を分子生物学的に解析したところ、骨格筋の糖代謝および筋萎縮に関与する一部の mRNA の発現量に有意な変化が認められた。これらの結果から、MPL の病態メカニズムに内側広筋が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

## 総括

本研究では、犬の膝蓋骨内方脱臼（MPL）において生じる骨変形を検証し、その病態メカニズムを病理学および分子生物学的手法を用いて解析を行った。

第一章では、わが国で飼育されている犬の MPL の発生状況を把握するために、一次診療施設を受診した犬を対象に大規模な疫学的調査を実施した。今回の調査では、調査対象全体の 19.2%（533/2,770 頭）に MPL が認められた。MPL の症例は、成長期に多発し、小型犬種に多い傾向がみられた。MPL の好発犬種は、トイ・プードル、チワワ、ヨークシャー・テリア、ポメラニアンであり、この結果は他国の疫学的情報とほとんど一致していた（Hodgman, 1963; Priester, 1972; LaFond *et al.*, 2002; Alam *et al.*, 2007）。MPL 罹患犬の性別は、雄が 256 頭（未去勢 126 頭・去勢済 130 頭）、雌が 277 頭（未不妊 152 頭・不妊済 125 頭）と、雌の方が有意に罹患率が高かった。調査対象全体において、両側性の MPL が 342 頭（12.3%）で認められ、片側性の MPL は 191 頭（6.9%）であった。MPL 罹患犬の中では、64.2% が両側性であり、両側性の MPL の発生が有意に多かった。調査対象全体に対する MPL の各グレードの罹患率は、グレード 1 が 10.9%、グレード 2 が 7.8%、グレード 3 が 3.1%、グレード 4 が 0.3%であった。MPL 罹患犬内での割合は、グレード 1 が 51.0%と最も多く、次いでグレード 2 が 35.1%と、両グレードで 85%以上を占めていた。さらに、グレード 3 が 12.9%、グレード 4 が 1.0%と、グレードが高くなるにつれて罹患率が低くなる傾向が認められた。本検討の結果から、わが国で飼育されている犬の 5 頭に 1 頭が MPL に罹患している可能性が示唆された。これは、わが国の犬が罹患している最も多い疾患といっても過言ではなく、その重要性が再認識された。また、トイ・プードルにおいて MPL の罹患例が頭



著に多かったことから、骨形態や病態の解析に最も臨床的価値の高い犬種であることが示された。

第二章では、わが国で最も MPL の罹患数が多いトイ・プードルを対象とし、MPL によって生じる大腿骨、脛骨、膝蓋骨の骨変形についてコンピューター断層撮影 (CT) を用いて三次元で評価し、それらの骨変形と重症度との関係について検討を行った。本検討の結果、MPL のトイ・プードルにおいては、グレード 3 群までは有意な骨変形を生じていなかったのに対し、グレード 4 群においては、大腿骨、脛骨、膝蓋骨の全てに様々な骨変形が生じていた。重度な MPL では、大腿骨における内反変形と外方捻転、滑車溝の低形成、大腿骨顆における cranial および middle compartment の低形成、脛骨近位の内旋変形、脛骨稜の内方への変位、膝蓋骨の成長不良が生じることが明らかとなった。過去に X 線画像をもとに二次元で骨の形態を評価した報告から、重度な MPL の症例における大腿骨内側顆の低形成は caudal compartment の低形成が主体であると考えられてきたが (Hulse, 1981; Roush, 1993; Schulz, 2002; Piermattei *et al.*, 2006)、本検討において三次元で詳細に検討したところ caudal compartment の低形成は生じておらず、新たに cranial および middle compartment の低形成が主体であることが明らかになった。本検討で明らかになった大腿骨顆に生じる形態異常は、外科手術の術式を決定する上で重要な判断基準となり得るため、その臨床的価値はきわめて高い。MPL 罹患犬に生じる骨変形について、同一個体内で膝関節を構成する複数の骨を同時に三次元で解析することにより、MPL によって生じる骨変形をより正確に把握することができた。これらの骨変形は、大腿四頭筋群の起始部と終止部を結ぶ直線に沿って生じており、大腿四頭筋群による持続的な牽引が関与している可能性が示唆され

た。

第三章では、MPL 罹患犬の膝関節周囲の筋肉において超音波検査を実施することでスクリーニングを行い、異常な筋肉を同定した。その結果、全症例で縫工筋、大腿直筋、内側広筋、外側広筋、中間広筋をそれぞれ描出することが可能であった。超音波画像における異常所見は、内側広筋に集中しており、特にグレード 4 群では全症例において内側広筋が高輝度を呈していた。次いで、同一症例において超音波検査にて異常が認められた内側広筋を術中に採取し、その一部を用いて病理組織学的検査を実施した。病理組織学的検査では、MPL の重症度が増すにつれて筋線維の大小不同が認められ、筋萎縮が生じていることが明らかになった。これらの筋萎縮は神経原性筋萎縮でないことが初めて明らかになった。しかし、内側広筋の異常が筋原性筋萎縮と廃用性筋萎縮のいずれによって生じているかについては判明しなかった。また、グレード 4 群の症例においては、筋束内の脂肪置換と間質への膠原線維の浸潤により、筋線維がほとんど認められない症例も存在した。さらに、一部の重度な MPL 症例の内側広筋から採取した mRNA を用いてマイクロアレイを行い、その発現を網羅的に解析した。マイクロアレイによる解析結果をもとに、内側広筋の異常に関係する遺伝子を推測し、Real time PCR にて候補遺伝子の発現量を定量的に評価することで MPL の病態メカニズムの解明を試みた。さらに、マイクロアレイによる発現変動遺伝子の網羅的解析を行ったところ、解糖系、アディポサイトカインシグナル伝達経路、FOXO シグナル伝達経路において複数の遺伝子に有意な発現強度の変動が認められた。マイクロアレイの解析結果およびヒトで筋萎縮の原因として報告のある遺伝子に着目し (Sandri *et al.*, 2004; Stitt *et al.*, 2004; MacFarlane *et al.*, 2006)、解糖系に關与する

*PGM1*、*PFKM*、*GAPDHS*、*PGAM2* および *FOXO* シグナル伝達経路に関与する *IGF1*、*AKT3*、*FOXO1*、*PPARGC1A*、*FBXO32* に対しての Real time PCR を行った。グレード 4 群の症例においては、今回検討した全ての解糖系に関する mRNA の発現量が低い傾向が認められた。これらの中で、*PGAM2* の発現量はグレード 4 群で有意な低値を示した。また、*FOXO* シグナル伝達経路においては、*IGF1*、*AKT3*、*FOXO1*、*FBXO32* の発現量に各群間で有意差は認められなかった。その一方で、グレード 4 群においては、*PPARGC1A* の発現量が正常群に比較し有意な低値を示した。本検討の結果、重度な MPL の症例では、病理組織学的な異常と骨格筋の糖代謝および筋萎縮に関与する一部の mRNA の発現量に有意な変化が認められた。これらの結果から、MPL の病態メカニズムに内側広筋が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

本研究では、犬の MPL において生じる骨変形を検証し、その病態メカニズムを病理学および分子生物学的手法を用いて解析を行った。疫学的調査の結果から、MPL はわが国の犬が罹患している最も多い疾患といっても過言ではなく、その重要性が再認識された。また、これまで三次元での骨形態の解析が困難であったグレード 4 の症例も含め検討を行ったところ、重度な MPL で生じる骨変形の詳細を明らかにしたとともに、新たな知見も得ることができた。その結果、MPL に伴う骨変形は、大腿四頭筋群の起始部と終始部に沿って生じていたことから、大腿四頭筋群の牽引が膝関節を構成する骨の変形に影響を与えている可能性が示唆された。本研究では、さらに内側広筋に焦点を当てて、病理組織学および分子生物学的に解析を行ったところ、MPL 罹患犬の内側広筋において生じる変化を初めて明らかにすることができた。これらの結果より内側広筋は、MPL の病態

生理において重要な役割を果たしている可能性が示唆された。しかし、本研究では大腿四頭筋群のうち、術中に離断することのできる内側広筋のみでしか検討を行っていないため、MPL の病態をさらに正確に把握するためには、大腿直筋、外側広筋、中間広筋においても同様の検討を行うのが理想である。また、内側広筋における mRNA 発現量の変化は、その機能異常を反映したものではない。そのため、MPL の機序を解明するためには、筋電図などを用いた筋肉の機能解析も取り入れていくべきである。本研究で得られた結果は、獣医療における MPL の治療に大きく貢献することが期待される。

## 謝辞

本研究を完遂するに至るまで、終始温かい激励とご指導、ご鞭撻を賜りました  
日本大学大学院 獣医学研究科獣医学専攻 獣医放射線学研究室 中山智宏先生、  
獣医外科学研究室 枝村一弥先生に心より感謝申し上げます。また、本論文の厳  
密な校正を賜りました日本大学大学院 獣医学研究科獣医学専攻 獣医外科学研  
究室 浅野和之先生、獣医病理学研究室 渋谷久先生に謹んで御礼申し上げます。

本研究を行うにあたり、多岐に亘る実験の技術指導並びにご助言を賜りました  
日本大学生物資源科学部 獣医病理学研究室 佐藤常男先生、山本成美先生、コ  
ーネル大学獣医学部 林慶先生、日本大学生物資源科学部 獣医外科学研究室研  
究員 久楽賢治先生、日本大学付属動物病院支援獣医師 石川智恵子先生に厚く  
御礼申し上げます。また、疫学的調査の実施にあたり、貴重なデータをご提供頂  
きました日本大学付属動物病院無給研修医 大野耕平先生、甲斐博高先生、勝間  
健次先生、嶋田竜一先生、種子島貢司先生、中西啓介先生、奈倉正典先生、松岡  
翔先生、松葉賢治先生、大宮スマイル動物病院 太田茂雄先生に深く感謝致しま  
す。さらには、獣医外科学研究室と獣医病理学研究室の学部生諸君に感謝致しま  
す。

最後に、私に本研究を行う機会を与え、研究の最中は心の支えとなってくれた妻  
桃子と息子 桜太、杏太に心から感謝致します。

## 引用文献

Alam MR, Lee JI, Kang HS, Kim IS, Park SY, Lee KC, Kim NS. (2007) Frequency and distribution of patellar luxation in dogs. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*, 20 (1): 59–64.

Apelt D, Kowaleski MP, Dyce J. (2005) Comparison of Computed Tomographic and Standard Radiographic Determination of Tibial Torsion in the Dog. *Veterinary Surgery*, 34 (5): 457–462.

Barnes DM, Anderson AA, Frost C, Barnes J. (2015) Repeatability and reproducibility of measurements of femoral and tibial alignment using computed tomography multiplanar reconstructions. *Veterinary Surgery*, 44 (1): 85–93.

Bodine SC, Latres E, Baumhueter S, Lai VK, Nunez L, Clarke BA, Poueymirou WT, Panaro FJ, Na E, Dharmarajan K, Pan ZQ, Valenzuela DM, DeChiara TM, Stitt TN, Yancopoulos GD, Glass DJ. (2001) Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. *Science*, 294 (5547): 1704–1708.

Bolstad BM, Irizarry RA, Astrand M, Speed TP. (2003) A comparison of normalization methods for high density oligonucleotide array data based on variance and bias. *Bioinformatics*, 19 (2): 185–193.

Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, Rasbach KA, Boström EA, Choi JH, Long JZ, Kajimura S, Zingaretti MC, Vind BF, Tu H, Cinti S, Højlund K, Gygi

SP, Spiegelman BM. (2012) A PGC1- $\alpha$ -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*, 481 (7382): 463–468.

Bound N, Zakai D, Butterworth SJ, Peard M. (2009) The prevalence of canine patellar luxation in three centres. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*, 22 (1): 32–37.

Brattstroem H. (1964) Shape of the intercondylar groove normally and in recurrent dislocation of the patella: a clinical and X-ray-anatomical investigation. *Acta orthopaedica Scandinavica. Supplementum*, 68: 61–148.

Bruecker KA. (2006) Femoral corrective osteotomy for the correction of medial patellar luxation—surgical technique. In *13th Conference of the European Society of Veterinary Orthopaedics and Traumatology*, Munich, Germany: 34.

Campbell JR, Pond MJ. (1972) The canine stifle joint II. Medial luxation of the patella An assesment of lateral capsular overlap and more radical surgery. *Journal of Small Animal Practice*, 13 (1):11–18.

Carrillon Y, Abidi H, Dejour D, Fantino O, Moyen B, Tran-Minh VA. (2000) Patellar Instability : Assessment on MR Images by Measuring the Lateral Trochlear Inclination – initial experience. *Radiology*, 216 (2): 582–585.

Denny HR, Minter HM. (1973) The long term results of surgery of canine stifle disorders. *Journal of Small Animal Practice*, 14 (11): 695–713.

- Devor M, Sorby R. (2006) Fibrotic contracture of the canine infraspinatus muscle: pathophysiology and prevention by early surgical intervention. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*, 19 (2): 117–121.
- Dismukes DI, Tomlinson JL, Fox DB, Cook JL, Witsberger TH. (2008) Radiographic measurement of canine tibial angles in the sagittal plane. *Veterinary Surgery*, 37 (3): 300–305.
- Dismukes DI, Tomlinson JL, Fox DB, Cook JL, Song KJ. (2007) Radiographic measurement of the proximal and distal mechanical joint angles in the canine tibia. *Veterinary Surgery*, 36 (7): 699–704.
- Dudley RM, Kowaleski MP, Drost WT, Dyce J. (2006) Radiographic and computed tomographic determination of femoral varus and torsion in the dog. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 47 (6): 546–552.
- Fettig AA, Rand WM, Sato AF, Solano M, McCarthy RJ, Boudrieau RJ. (2003) Observer variability of tibial plateau slope measurement in 40 dogs with cranial cruciate ligament-deficient stifle joints. *Veterinary Surgery*, 32 (5): 471–478.
- Fitzpatrick CL, Krotscheck U, Thompson MS, Todhunter RJ, Zhang Z. (2012) Evaluation of tibial torsion in Yorkshire Terriers with and without medial patellar luxation. *Veterinary Surgery*, 41 (8): 966–972.



Gargiulo P, Vatnsdal B, Ingvarsson P, Knútsdóttir S, Gudmundsdóttir V, Yngvason S, Helgason T. (2008) Restoration of muscle volume and shape induced by electrical stimulation of denervated degenerated muscles: qualitative and quantitative measurement of changes in rectus femoris using computer tomography and image segmentation.

*Artificial Organs*, 32 (8): 609–613.

Gentleman RC, Carey VJ, Bates DM, Bolstad B, Dettling M, Dudoit S, Ellis B, Gautier L, Ge Y, Gentry J, Hornik K, Hothorn T, Huber W, Iacus S, Irizarry R, Leisch F, Li C, Maechler M, Rossini AJ, Sawitzki G, Smith C, Smyth G, Tierney L, Yang JY, Zhang J.

(2004) Bioconductor: open software development for computational biology and bioinformatics. *Genome Biology*, 5 (10): R80.

Gibbons SE, Macias C, Tonzing MA, Pinchbeck GL, McKee WM. (2006) Patellar luxation in 70 large breed dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 47 (1): 3–9.

Ginja MMD, Gonzalo-Orden JM, Jesus SS, Silvestre AM, Llorens-Pena MP, Ferreira AJ. (2007) Measurement of the femoral neck anteversion angle in the dog using computed tomography. *The Veterinary Journal*, 174 (2): 378–383.

Hamano T, Kawamura Y, Mutoh T, Hirayama M, Kuriyama M. (2010) Muscle MRI in myotonic dystrophy type 1 with foot drop. *European Neurology*, 63 (3): 144–148.

Hauptman J, Prieur WD, Butler HC, Guffy MM. (1979) The angle of inclination of the canine femoral head and neck. *Veterinary Surgery*, 8 (3): 74–77.

Hayes AG, Boudrieau RJ, Hunderford LL. (1994) Frequency and distribution of medial and lateral patellar luxation in dogs: 124 cases (1982–1992). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 205 (5): 716–720.

Hodgman SFJ. (1963) Abnormalities and Defects in Pedigree Dogs–I. An Investigation into the Existence of Abnormalities in Pedigree Dogs in the British Isles. *Journal of Small Animal Practice*, 4 (6): 447–456.

Hulse DA. (1981) Pathophysiology and management of medial patellar luxation in the dog. *Veterinary Medicine, Small Animal Clinician*, 76 (1): 43–51.

Ichida M, Nemoto S, Finkel T. (2002) Identification of a specific molecular repressor of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma Coactivator-1 alpha (PGC-1alpha). *The Journal of Biological Chemistry*, 277 (52): 50991–50995.

Inauen R, Koch D, Bass M, Haessig M. (2009) Tibial tuberosity conformation as a risk factor for cranial cruciate ligament ruptures in the dog. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*, 22 (1): 16–20.

Insall J, Salvati ED. (1971) Patella position in the normal knee joint. *Radiology*, 101 (1): 101–104.

Ismail C, Zabai J, Hernandez HJ, Woletz P, Manning H, Teixeira C, DiPietro L, Blackman MR, Harris-Love MO. (2015) Diagnostic ultrasound estimates of muscle mass

and muscle quality discriminate between women with and without sarcopenia. *Frontiers in Physiology*, 6 (302): 1–10.

Johnson AL, Probst CW, DeCamp CE, Rosenstein DS, Hauptman JG, Kern TL. (2006) Vertical patellar position in large-breed dogs with clinically normal stifles and large-breed dogs with medial patellar luxation. *Veterinary Surgery*, 35 (1): 78–81.

Johnson AL, Broaddus K, Hauptman JG, Marsh S, Monsere J, Sepulveda G. (2002) Vertical position of the patella in the stifle joint of clinically normal large-breed dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 63 (1): 42–46.

Kaiser S, Cornely D, Golder W, Garner MT, Wolf KJ, Waibl H, Brunnberg L. (2001) The correlation of canine patellar luxation and the anteversion angle as measured using magnetic resonance images. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 42 (2): 113–118.

Kalichman L, Zhu Y, Zhang Y, Niu J, Gale D, Felson DT, Hunter D. (2007) The association between patella alignment and knee pain and function: an MRI study in persons with symptomatic knee osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 15 (11): 1235–1240.

Kodituwakku GE. (1962) Luxation of the patella in the dog. *Veterinary Record*, 74: 1499–1506.

Kowaleski MP. (2006) Patellar luxation – preoperative evaluation and surgical planning for femoral corrective osteotomy. In *13th Conference of the European Society of Veterinary Orthopaedics and Traumatology*, Munich, Germany: 87–90.

LaFond E, Breur GJ, Austin CC. (2002) Breed susceptibility for developmental orthopedic diseases in dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 38 (5): 467–477.

Lewis DD, Shelton GD, Piras A, Dee JF, Robins GM, Herron AJ, Fries C, Ginn PE, Hulse DA, Simpson DL, Allen DA. (1997) Gracilis or semitendinosus myopathy in 18 dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 33 (4): 177–188.

McFarlane C, Plummer E, Thomas M, Hennebry A, Ashby M, Ling N, Smith H, Sharma M, Kambadur R. (2006) Myostatin induces cachexia by activating the ubiquitin proteolytic system through an NF-kappaB-independent, FoxO1-dependent mechanism. *Journal of Cellular Physiology*, 209 (2): 501–514.

Miller ME. (1980) The muscular system. In Evans HE, Christensen GC. eds. *Miller's Anatomy of the Dog*. Philadelphia, Saunders Elsevier: 99–180.

Montavon PM, Hohn RB, Olmstead ML, Rudy RL. (1985) Inclination and anteversion angles of the femoral head and neck in the dog. Evaluation of a standard method of measurement. *Veterinary Surgery*, 14 (4): 277–282.

Mortari AC, Rahal SC, Vulcano LC, da Silva VC, Volpi RS. (2009) Use of radiographic measurements in the evaluation of dogs with medial patellar luxation. *Canadian Veterinary Journal*, 50 (10): 1064–1068.

Mostafa AA, Griffon DJ, Thomas MW, Constable PD. (2008) Proximodistal alignment of the canine patella: radiographic evaluation and association with medial and lateral patellar luxation. *Veterinary Surgery*, 37 (3): 201–211.

Mostafa AA, Griffon DJ, Thomas MW, Constable PD. (2014) Radiographic evaluation of femoral torsion and correlation with computed tomographic techniques in labrador retrievers with and without cranial cruciate ligament disease. *Veterinary Surgery*, 43 (5): 534–541.

Nagaoka K, Orima H, Fujita M, Ichiki H. (1995) A new surgical method for canine congenital patellar luxation. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 57 (1): 105–109.

Nunamaker DM, Beiry DN, Newton CD. (1973) Femoral neck anteversion in the dog: Its radiographic measurement. *Veterinary Radiology*, 14 (1): 45–48.

Paley D. (2003) Normal lower limb alignment and joint orientation. In *Principles of Deformity Correction*. Berlin, Germany, Springer-Verlag: 1–18.

Persuki AM, Kowaleski P, Pozzi A. (2006) Treatment of medial patellar luxation and distal femoral varus by femoral wedge ostectomy in dogs: 30 cases (2000-2005). In *2nd*

*World Veterinary Orthopaedic and 33rd Annual Veterinary Orthopaedic Society Meeting.*

Keystone, Colorado, USA: 240.

Petazzoni M. (2006) Hind limb alignment in the dog to treat patellar luxation: a retrospective study of 39 cases (2001-2005). In *13th Conference of the European Society of Veterinary Orthopaedics and Traumatology*. Munich, Germany: 263.

Piermattei DL, Flo GL, DeCamp CE. (2006) The stifle joint. In Brinker WO, Piermattei DL, Flo GL, eds. *Handbook of Small Animal Orthopedics and Fracture Repair*. 4th ed. Philadelphia, Saunders: 562–582.

Pinheiro CH, Silveira LR, Nachbar RT, Vitzel KF, Curi R. (2010) Regulation of glycolysis and expression of glucose metabolism-related genes by reactive oxygen species in contracting skeletal muscle cells. *Free Radical Biology & Medicine*, 48 (7): 953–960.

Preininger B, Schmorl K, von Roth P, Winkler T, Schlattmann P, Matziolis G, Perka C, Tohtz S. (2011) A formula to predict patients' gluteus medius muscle volume from hip joint geometry. *Manual Therapy*, 16 (5): 447–451.

Priester WA. (1972) Sex, size, and breed as risk factors in canine patellar luxation. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 160 (5): 740–742.

Quackenbush J. (2002) Microarray data normalization and transformation. *Nature Genetics*, 32: 496–501.

Remedios AM, Basher AW, Runyon CL, Fries CL. (1992) Medial patellar luxation in 16 large dogs. A retrospective study. *Veterinary Surgery*, 21 (1): 5–9.

Renwick AIC, McKee WM, Emmerson TD, House AK. (2009) Preliminary experiences of the triple tibial osteotomy procedure: tibial morphology and complications. *Journal of Small Animal Practice*, 50 (5): 212–221.

Roch SP, Gemmill TJ. (2008) Treatment of medial patellar luxation by femoral closing wedge ostectomy using a distal femoral plate in four dogs. *The Journal of Small Animal Practice*, 49 (3): 152–158.

Roush JK. (1993) Canine patellar luxation. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 23 (4): 855–868.

Sandri M, Sandri C, Gilbert A, Skurk C, Calabria E, Picard A, Walsh K, Schiaffino S, Lecker SH, Goldberg AL. (2004) Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy. *Cell*, 117 (3): 399–412.

Schulz K. (2002) Diseases of the Joints. In: Fossum TW, ed. *Small Animal Surgery*. St Louis, Mosby Elsevier: 1143–1315.

Scott JM, Martin DS, Ploutz-Snyder R, Caine T, Matz T, Arzeno NM, Buxton R, Ploutz-Snyder L. (2012) Reliability and Validity of Panoramic Ultrasound for Muscle Quantification. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 38 (9): 1656-1661.

Singleton WB. (1969) The surgical correction of stifle deformities in the dog. *Journal of Small Animal Practice*, 10 (2): 59–69.

Soparat C, Wangdee C, Chuthatep S, Kalpravidh M. (2012) Radiographic measurement for femoral varus in Pomeranian dogs with and without medial patellar luxation. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*, 25 (3): 197–201.

Stefanik JJ, Zumwalt AC, Segal NA, Lynch JA, Powers CM. (2013) Association between measures of patella height, morphologic features of the trochlea, and patellofemoral joint alignment: the MOST study. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 471 (8): 2641–2648.

Stitt TN, Drujan D, Clarke BA. (2004) The IGF-1/PI3K/Akt pathway prevents expression of muscle atrophy-induced ubiquitin ligases by inhibiting FOXO transcription factors. *Molecular Cell*, 14 (3): 395-403.

Swiderski JK, Radecki SV, Park RD, Palmer RH. (2008) Comparison of radiographic and anatomic femoral varus angle measurements in normal dogs. *Veterinary Surgery*, 37 (1): 43–48.

Swiderski JK, Palmer RH. (2007) Long-term outcome of distal femoral osteotomy for treatment of combined distal femoral varus and medial patellar luxation: 12 cases (1999-2004). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 231 (7): 1070–1075.



Thomaes T, Thomis M, Onkelinx S, Coudyzer W, Cornelissen V, Vanhees L. (2012) Reliability and validity of the ultrasound technique to measure the rectus femoris muscle diameter in older CAD-patients. *BMC Medical Imaging*, 12 (1): 7

Tomlinson J, Fox D, Cook JL, Keller GG. (2007) Measurement of femoral angles in four dog breeds. *Veterinary Surgery*, 36 (6): 593–598.

Towle HA, Griffon DJ, Thomas MW, Siegel AM, Dunning D, Johnson A. (2005) Pre- and Postoperative Radiographic and Computed Tomographic Evaluation of Dogs with Medial Patellar Luxation. *Veterinary Surgery*, 34 (3): 265–272.

Vasseur PB. (2003) Stifle joint. In Vasseur PB, ed. *Textbook of Small Animal Surgery*. Philadelphia, Saunders: 2090–2132.

Vedrine B, Guillemot A, Fontaine D, Ragetly GR, Etchepareborde S. (2013) Comparative anatomy of the proximal tibia in healthy Labrador Retrievers and Yorkshire Terriers. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*, 26 (4): 266–270.

桐原信之, 永岡勝好, 中山一也, 織間博光. (1996) 犬の膝蓋骨内方脱臼の発生状況. *日本獣医師会雑誌*, 49: 35–37.

松井高峯. (2008) 運動器. 梅村孝司, 野村靖夫, 岡田幸助, 林俊春, 土井邦雄 (編). *動物病理学各論*. 東京, 文永堂: 433–466.

中山裕之. (2008) 細胞の傷害と死. 梅村孝司, 野村靖夫, 岡田幸助, 林俊春, 土井邦雄 (編) . 動物病理学総論. 東京, 文英堂: 23-76.