

弁付導管による肺動脈弁置換術の基礎的検討

篠田麻子^{1),2)} 水越崇博^{1),2)} 船山麻理菜³⁾ 水野壮司¹⁾水野 祐¹⁾ 藤原めぐみ³⁾ 上地正実^{1),2),3)†}

1) JASMINE どうぶつ循環器病センター (〒224-0001 横浜市都筑区中川 2-7-3)

2) 北里大学獣医畜産学部 (〒034-8628 十和田市東 23 番町 35-1)

3) 日本大学生物資源科学部 (〒252-0880 藤沢市亀井野 1866)

(2013年8月30日受付・2014年9月16日受理)

要 約

本研究の目的は、二尖弁の弁付導管を作成し肺動脈弁位に置換後の可動性、石灰化、抗血栓性を評価することである。供試犬は4頭の健常犬とした。弁付導管は、新鮮生体膜総鞘膜、デナコール処理済み生体膜あるいはePTFEパッチをトリミングして作製した。置換後の心臓超音波検査では弁の良好な可動性が確認できた。置換6カ月後の病理学的所見では血栓形成や顕著な石灰化は認められなかった。導管の内壁及び弁縫合周囲において線維芽細胞を含む内皮形成が認められた。今後、弁付導管置換後の機能についてより長期にわたり検討する必要があるが、本研究の結果から、重度肺動脈狭窄症の犬に対する治療法として弁付導管による肺動脈弁置換術の有効性が示唆された。

—キーワード：人工弁、先天性心奇形、体外循環、開心術、移植。

----- 日獣会誌 68, 49～54 (2015)

肺動脈狭窄症は、犬において一般的な先天性心疾患である [1-4]。肺動脈狭窄は弁上部、弁性、弁下部に存在するが、犬では弁性狭窄が一般的である [2, 4]。肺動脈狭窄症が軽度な犬は、重篤な臨床症状を呈さず何年も生存する [5]。右心室と肺動脈の圧較差が重度な場合 (>80mmHg) は失神、不整脈、突然死の危険性が増すため、外科手術が推奨される [4, 6]。

肺動脈狭窄症に対する手術には、バルーン弁形成術及びパッチグラフト法がある [7-11]。近年、人と犬ではバルーン弁形成術が肺動脈狭窄症で選択されることが多い [6]。しかしながら、弁上部狭窄と弁下部狭窄をバルーン弁形成術のみで治療することは難しい [5]。弁や弁輪の低形成が存在する場合も、バルーン弁形成術は適応とはされない [6]。加えて、バルーン弁形成術では肺動脈弁位へのバルーン誘導が難しい小型犬や冠状動脈奇形を伴う犬に応用することは難しい [8]。

開胸下での流出路拡張術、弁尖切開術及び弁尖切除術は短期及び長期における圧較差の減少を成し遂げ、心疾患イベントを減少させる [12]。この方法は、弁上部、弁性、弁下部の肺動脈弁狭窄症にも適応可能だが、すべ

ての弁を切除しなければならず肺動脈弁逆流が生じる [13]。犬では肺動脈弁の切除はその枚数に応じて心機能が悪化することも報告されている [14, 15]。このため、肺動脈狭窄症の手術の長期予後を改善するためには肺動脈弁の矯正と逆流の予防が必要であると考えられる。人においては右室流出路再建術に弁付き心外導管が用いられている。弁付き心外導管の種類には生体弁付き導管、馬心膜性弁付き導管及び自己心膜導管がある [16]。獣医領域では生体膜移植自体が行われる機会が少なく、また、移植後中期での弁の可動性、石灰化、抗血栓性についての報告は少ない。

本研究では、二尖弁の弁付導管を3種類作成し犬の肺動脈弁位に置換した際の弁の可動性、石灰化、血栓の有無についてのおのおの評価することを目的とした。

材料及び方法

実験には北里大学で2003～2006年に飼育されていた成犬4頭（未去勢雄2頭、避妊雌1頭、未避妊雌1頭、体重6.0～11.9kg）を用いた。全実験犬は血液検査、心臓超音波検査、心電図、心音図検査で臨床的に正常であ

† 連絡責任者(現所属)：上地正実 (日本どうぶつ先進医療研究所(株) JASMINE どうぶつ循環器病センター)

〒224-0001 横浜市都筑区中川 2-7-3 ☎045-532-8451 FAX 045-532-8456

E-mail : uechi.masami@cardiovets.jp (masami.uechi@jasmine-vet.co.jp)

ると確認された。本研究は北里大学実験動物倫理委員会に承認された。

麻酔前投与薬としてマレイン酸アセプロマジン 0.05mg/kg (Boehringer Ingelheim Co., Ltd., Canada), 塩酸ヒドロキシジン 1mg/kg (Atarax-P®, ファイザー製薬(株), 東京), 硫酸アトロピン 0.025mg/kg (Phoenix Phamaceutical Inc, U.K.) を麻酔導入 1 時間前と 30 分前に混合筋肉内注射した。麻酔導入 5 分前にはマレイン酸アセプロマジン 0.05mg/kg を筋肉内注射し, 酒石酸ブトルファノール 0.4mg/kg (Stadol®, プリストル・マイヤーズ(株), 東京), アンピシリンナトリウム 20mg/kg (ビクシリン®, 明治製菓(株), 東京) を静脈内投与した。100%酸素をマスクで吸引させ, 十分に酸素化させた後, イソフルレン (ISOFLU®, アボットラボラトリーズ(株), 東京) にて麻酔導入を開始した。挿管後, イソフルレンは 2~3% で維持した。さらに, 導入 5 分後にマレイン酸アセプロマジン 0.05mg/kg を筋肉内注射した。維持麻酔はイソフルレンの吸入麻酔とし, 体外循環中はプロポフォル(ラビノベット®, 武田シェリング・プラウアニマルヘルス(株), 大阪), 塩酸ケタミン (フジタ製薬(株), 東京) の混合注射にて行った。尿量のモニターのために尿道カテーテルを設置した。手術中は, 観血的動脈圧測定, 中心静脈圧測定, 心拍数, 動脈血酸素飽和度, 終末呼気炭酸ガス濃度, イソフルレン濃度, 直腸温, 食道温, 尿量を定時的に測定した。体外循環には動物用人工心肺 (NAPS-Ⅲ, 泉医科工業(株), 東京) を用いた。なお, 人工心肺の回路は日局 D-マンニトール注射液 (20% マンニトール注射液「日研」, 日研化学(株), 東京), 炭酸水素ナトリウム注射液 (7% メイロン®, (株)大塚製薬工場, 徳島), ヘパリンナトリウム, 酢酸リンゲル液 (ヴィーン®F 注, 日研化学(株), 東京) でプライミング処理した。

弁付導管の置換は自己新鮮生体膜, デナコール処理済み同種他家生体膜, ePTFE パッチ (ゴアテックス®, ジャパンゴアテックス(株), 東京) で行った。自己新鮮生体膜, 及び同種他家生体膜には総鞘膜を用いた。同種他家生体膜のデナコール (デナコール® EX-313, ナガセケムテックス(株), 大阪) 処理は, 採材及びトリミングをし, 1% プロタミン溶液に 24 時間浸漬後, 4% デナコールにて 48 時間浸漬し架橋した。その後, 1% ヘパリン溶液に浸漬しヘパリン化し, 70% エタノールにて 4℃ で冷却保存した。デナコール処理済み生体膜は縫合前に滅菌生理食塩水で十分に洗浄した。

自己新鮮生体膜, デナコール処理済み生体膜, ePTFE パッチを長方形にトリミングし, 長方形の膜の端を合わせて 6-0 のモノフレン縫合糸 (ネスコスーチャー®, (株)アズウェル, 大阪) で縫合して円筒状にした。円筒の円周サイズは心臓超音波検査時に肺動脈のサ

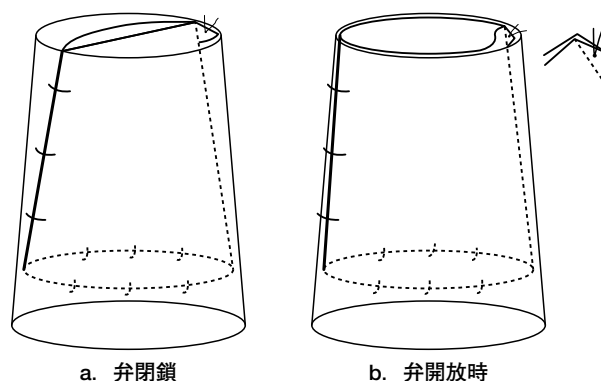


図1 肺動脈弁置換方法

外側の円筒は右室流出路を示し, 内側の破線の円筒は作成した弁付導管を示す。右室流出路の内壁に自己新鮮生体膜, デナコール処理済み生体膜, あるいは ePTFE パッチを長方形にトリミングしてあてがった。下端は内壁に円周全域で縫合し, 上端は流出路遠位端切開線の対側に一部折り返し部分を作成し内壁に縫合した (流出路拡張部分は除いてある)。これにより, 導管は先ずぼまりな円筒の状態にした。折り返し部分の対側に位置するパッチの両端 (太線) は流出路縫合時に一緒に縫い合わせた。

右上の図は折り返し部分の拡大図。

イズを測定して合わせた。

血圧測定用のカテーテル (3Fr アトム栄養カテーテル®, アトム(株), 東京) を大腿動・静脈に留置した。頸動・静脈を剝離し, 保持した。塩酸プロピバカイン (マーカイン®, アストラゼネカ(株), 大阪) で肋間の局所麻酔をしたのち, 左側第 4 肋間で開胸を行った。大動脈に心筋保護液注入用カニューレを留置し, さらに右心房に脱血用カニューレを留置したのち, ヘパリンナトリウム 200IU/kg (清水製薬(株), 東京) を静脈内投与し, 活性凝固時間 (activated clotting time, ACT) が 300 秒以上であることを確認した。ヘパリン投与後は, 塩酸ケタミンとプロポフォルの混合麻酔薬を 0.1mg/kg/h で開始した。

剝離しておいた頸動脈に送血用カニューレを設置し, 頸静脈にも脱血用カニューレを設置した。これらのカニューレを人工心肺回路と接続し, 人工心肺ポンプを回して体外循環を開始した。血液灌流量は 100ml/kg/min に設定した。

体外循環確立後, 動脈鉗子で大動脈を遮断し, ただちに 4℃ に冷却し K 濃度を 20mEq/l に調整したカルディオブレジア (ミオテクター®, 小林製薬工業(株), 東京) を 10ml/kg の用量で急速投与して完全に心停止させた。初回注入後から心臓内操作が終了するまで 20 分おきに 10ml/kg で投与した。

心停止後に右室流出路を縦切開し, 肺動脈弁をすべて切除した。No. 1 では弁付導管に自己新鮮生体膜を使用し, 流出路拡張術は行わなかった。No. 2 では, デナコール処理済み生体膜を使用し, 流出路拡張術も同生体膜を

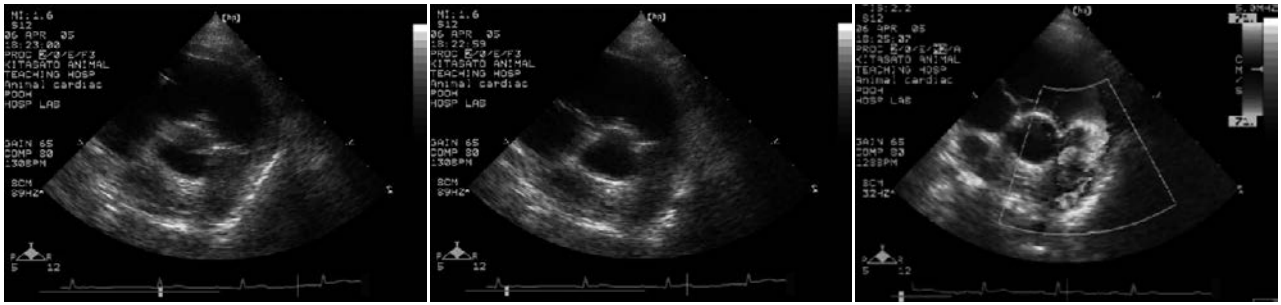


図2 No. 4心臓超音波検査所見(術後6週間目)
 左:弁の閉鎖が確認できる. 中央:弁の開放が確認できる. 右:肺動脈弁逆流は認められない.

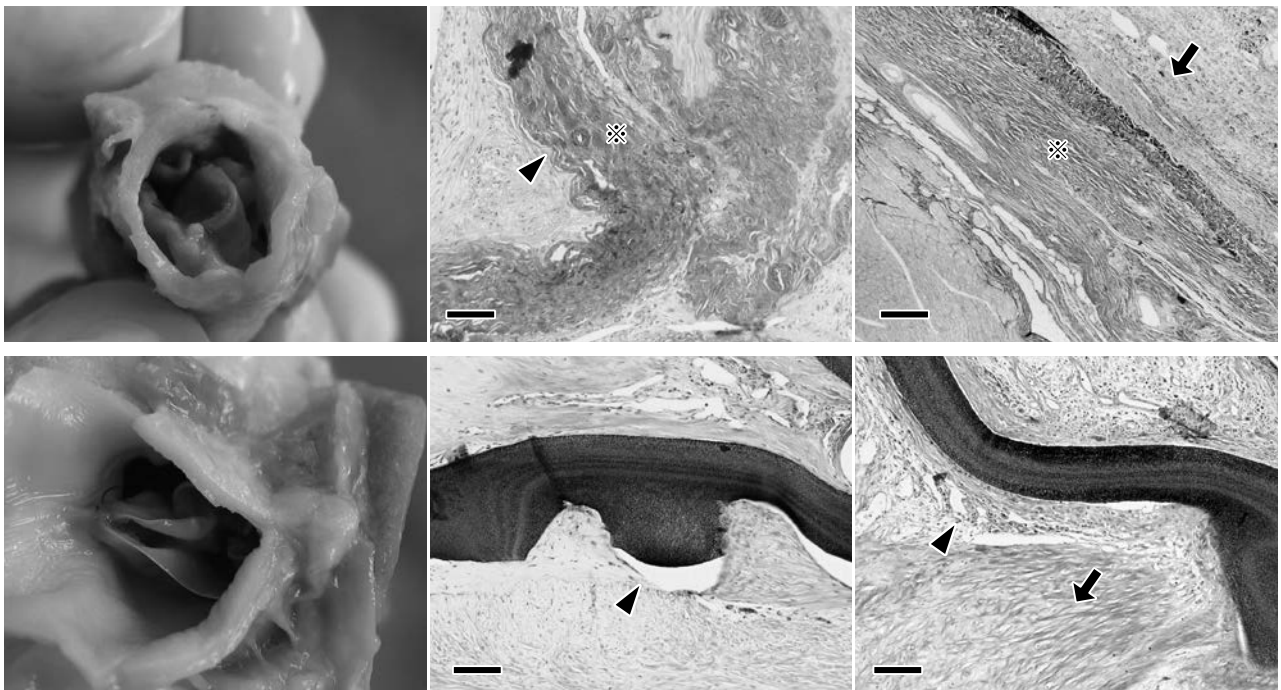


図3 移植弁の病理検査所見

上段: No. 2 デナコール処理済み生体膜の組織学的検査(左:肉眼所見, 中央: HE 染色, 右: MT 染色, Bar=400 μm).

肉眼所見では, 弁の肥厚が確認された. 写真はともに弁縫着部の流出路領域. 中央に弁(※)を認め, HE 染色で血管内皮細胞の新生(矢頭)が認められ, 縫着した弁と内皮細胞との結合は強固であった. MT 染色で, 線維の侵入(矢印)が認められた. 左下領域に流出路を認めアーティファクトにより, 弁の一部離開部分を認める.

下段: No. 3 ePTFE パッチの組織学的検査(左:肉眼所見, 中央: HE 染色, 右: MT 染色, Bar=400 μm).

肉眼所見では, 弁の変化は認められなかった. 写真は弁縫着部の流出路領域. HE 染色, MT 染色ともに血管内皮細胞の新生(矢頭)と線維の侵入(矢印)が認められた.

使用して行った. No. 3, 4ではePTFEパッチを使用し, 流出路拡張術はデナコール処理済み生体膜を使用して行った.

切開した流出路に弁付導管をあてがい円筒下端の全周を流出路内壁に6-0モノフレン縫合糸で縫合した. 弁付導管は二尖弁とし, 上端は合わせ目部分とその対側部分に一部折り返した部分を作成した. 対側部分の折り返しは内壁にマットレス縫合にて固定した(図1). その後, 肺動脈縦切開部に合わせて弁付導管を6-0モノフレン縫合糸で縫合し, 弁付導管置換及び流出路拡張術を行った.

流出路縫合終了後, 大動脈の鉗圧を解除し, 心臓拍動を再開させた. 体温を37℃に復温させながら, 徐々にポンプ流量を減少させポンプを停止した. 各カニューレを抜去した. 硫酸プロタミン(ノボ硫酸プロタミン®, アベンティスファーマ(株), 東京)0.2mg/kgをゆっくりと投与開始した. ACTが200秒以下になったことを確認したのち, ドレーンを留置し, 定法にしたがって閉胸した. 胸腔ドレーンは出血がないことを確認し, 術後3日以内に抜去した.

術後2, 4, 6週間で, 血液検査, 心電図検査, 心臓超音波検査を行った. 術後2カ月で心臓カテーテル検査

(中心静脈圧, 右室圧, 肺動脈圧), 心臓超音波検査を行った。術後3, 4及び5カ月で一般の身体検査及び心臓超音波検査を行った。術後6カ月で心臓超音波検査及び安楽死後に組織学的検査を行った。ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色及び, マッソン・トリクローム (MT) 染色で弁付導管縫合部位の評価を行った。

成 績

全実験犬で, 術後定期的に行った一般身体的検査, 血液検査並びに心電図検査で異常は認められず, 心臓超音波検査で弁の良好な可動性が確認できた。心臓超音波検査では, No. 1に軽度の弁の肥厚が確認されたが, 逆流は認められなかった。No. 2では, 同じく弁の肥厚を認め, 縫着部付近での軽度の逆流を認めたが, 逆流が弁尖部分からではなく, 弁付導管の壁に沿うように生じていたため, 縫着部からのリークの可能性が示唆された。No. 3では弁の肥厚は認めなかったが, 縫着部付近での軽度逆流を認め, No. 2と同様に縫着部からのリークが疑われた。No. 2及びNo. 3で認められた縫着部での逆流は術後6カ月の心臓超音波検査でも, 継続して同程度確認された。No. 4では弁の肥厚を認めず, 逆流も認めなかった (図2)。心臓カテーテル検査では, No. 1で中心静脈圧: 4/3/3mmHg (収縮期血圧, 平均血圧, 拡張期血圧), 右心室圧: 26/18/12mmHg, 肺動脈圧: 15/11/7mmHg, No. 2で中心静脈圧: 0/0/0mmHg, 右心室圧: 25/7/0mmHg, 肺動脈圧: 14/7/1mmHg, No. 3で中心静脈圧: 0/-1/-2mmHg, 右心室圧: 36/14/3mmHg, 肺動脈圧: 12/9/5mmHg, No. 4で中心静脈圧: 1/0/0mmHg, 右心室圧: 20/8/0mmHg, 肺動脈圧: 12/9/6mmHgであった。No. 3で肺動脈と右心室の圧較差で軽度上昇を認めた。組織学的検査では肉眼的には, No. 1では置換した肺動脈弁は変色, 肥厚し湾曲し, 変化が著しかった。HE染色で置換した弁付導管の流出路内壁に接している部分に, 線維芽細胞を含む内皮形成が認められた。MT染色で, 弁付導管の円筒の下端を縫合した流出路の一部, 膠原線維の侵入が認められた。縫合糸の辺縁で一部石灰化が認められた以外は, 明瞭な石灰化, 血栓は肉眼的にも, 組織学的にも認めなかった。No. 2では弁は置換した時点よりも肥厚しており, 色調も灰白色に変化していた (図3上段)。HE及びMT染色で, 弁自体は均一な膠原線維で占められて肥厚しており, 血管の弁尖への侵入を認めなかった。弁付導管縫着部では血管新生を伴う内皮細胞の発達と, 線維の顕著な侵入が認められた。明らかな石灰化は認められなかった。No. 3及びNo. 4ではePTFEパッチ弁に肉眼的な変化や石灰化は認められなかった (図3下段)。HE及びMT染色で弁付導管縫着部には血管新生を伴う内皮細胞の発達が認められ結合組織の侵入が顕著で

あった。

考 察

肺動脈狭窄症に対する狭窄の解除及び肺動脈弁逆流の予防を目的として自己新鮮生体膜とデナコール処理済み生体膜及びePTFEパッチを使用して肺動脈弁置換術の基礎的検討を行った。

今回作成した弁付導管は, 長方形にトリミングした材料を円筒形にすることで, 簡便に二尖弁を形成した。特別な器具を必要とせず, 血流の確保と逆流を防ぐことができる弁付導管が作成できた。ただし, 縫着部からのリークが残るものもあり, 弁付導管下端の縫着を十分に必要性があると考えられた。

ePTFEパッチは, 強靱であり, 抗血栓性を有し, 生体適合性が高いことが特徴としてあげられる。ePTFEパッチ弁付導管では, 心臓超音波検査で弁の可動性と閉鎖性が確認できた。また, 肉眼的所見でも弁自体の変性, 肥厚等は認めなかった。ePTFEによる三弁付導管を用いた右室流出路置換術においても良好な結果が報告されている [16]。これらのことから, ePTFEパッチ弁付導管の有用性が示唆された。

デナコール処理済み生体膜は生体反応が少なく, 抗血栓性, 抗石灰化能を有し, 弾性・伸展性に富み, 縫合しやすいなどの特徴をもつ [17-21]。本研究においては, 心臓超音波検査で弁の開閉は良好であったが, 弁の軽度肥厚が認められた。肉眼的所見でも弁自体は肥厚し, 灰白色に変色していた。これは常に血流ストレス下のもと, 弁の開閉による機械的ストレスが加わったためと考えられた。

今回の研究期間では, 石灰化はデナコール処理済み生体膜でも, ePTFEパッチでも認められなかったが, 今後は長期の経過観察が必要である。

本研究では, 弁付導管の材料として新鮮生体膜, デナコール処理済み生体膜及びePTFEパッチを使用し, 肺動脈弁位へ置換したが, それぞれ例数が少ないため材料に関する考察, 比較は十分に行うことができず, 今後の検討課題が残る。しかし, 同じデザインの弁付導管を置換した後の弁の可動性は6カ月間良好であったことから本デザインの弁付導管の臨床応用への可能性が示唆された。

引 用 文 献

- [1] Buchanan JW: Causes and prevalence of cardiovascular diseases, Current Veterinary Therapy, Kirk RW, et al eds, 11th ed, 657-655, WB Saunders, Philadelphia (1992)
- [2] Mark DK, Richard DK: 肺動脈弁狭窄症, 小動物の心臓病学, 局 博一訳他, 300-314, メディカルサイエンス社, 東京 (2003)

- [3] Tidholm A : Retrospective study of congenital heart defects in 151 dogs, *Small Anim Pract*, 38, 94-98 (1997)
- [4] Fingland RB, Bonagura JD, Myer CW : Pulmonic stenosis in the dog 29 cases (1975-1984), *J Am Vet Med Assoc*, 189, 218 (1997)
- [5] Ristic JME, Marin CJ, Baines EA, Herrtage ME : Congenital pulmonic stenosis a retrospective study of 24 cases seen between 1990-1999, *Journal of Veterinary Cardiology*, 3, 13-19 (2001)
- [6] Bussadori C, DeMadron E, Santilli RA, Borgarelli M : Balloon valvuloplasty in 30 dogs with pulmonic stenosis: effect of valve morphology and annular size on initial and 1-year outcome, *J Vet Intern Med*, 15, 553-558 (2001)
- [7] Bright JM, Jennings J, Toal R, Hood ME : Percutaneous balloon valvuloplasty for treatment of pulmonic stenosis in a dog, *J Am Vet Med Assoc*, 191, 995-996 (1987)
- [8] Johnson MS, Martin M, Edwards D, French A, Henley W : Pulmonic stenosis in dogs: balloon dilation improves clinical outcome, *J Vet Intern Med*, 18, 656-662 (2004)
- [9] Hunt GB, Pearson MR, Bellenger CR, Malik R : Use of a modified open patch-graft technique and valvulotomy for correction of severe pulmonic stenosis in dogs: eight consecutive cases, *Aust Vet J*, 70, 244-248 (1993)
- [10] Orton EC, Bruecker KA, McCracken TO : An open patch-graft technique for correction of pulmonic stenosis in the dog, *Vet Surg*, 19, 148-154 (1990)
- [11] Staudte KL, Gibson NR, Read RA, Edwards GA : Evaluation of closed pericardial patch grafting for management of severe pulmonic stenosis, *Aust Vet J*, 82, 33-37 (2004)
- [12] Peterson C, Schilthuis JJ, Dodge-Khatami A, Hitchcock JF, Meijboom EJ, Bennink GB : Comparative long-term results of surgery versus balloon valvuloplasty for pulmonary valve stenosis in infants and children, *Ann Thorac Surg*, 76, 1078-1083 (2003)
- [13] Theresa WF : Pulmonic stenosis, *Small Animal Surgery 小動物外科手術*, 作野幸孝訳, 585-588, LLL Seminar, 鹿児島 (1999)
- [14] Austen WG, Greenfield LJ, Ebert PA, Marrow AG : Experimental study of right ventricular function after surgical procedures involving the right ventricle and plumonic valve, *Ann Surg*, 155, 606-613 (1962)
- [15] 西谷 泰 : 軽度に屈曲した有洞一弁付き流出路パッチの有用性に関する基礎的研究により機能的な Fallot 四徴症右室流出路再建術のために, *日胸外会誌*, 35, 60-74 (1987)
- [16] 林 弘樹, 高橋幸弘, 安藤 誠, 山城理仁, 長町恵磨, 菊池俊夫, 加瀬川均 : 右室流出路再建術に用いた ePTFE3 弁付き Dacron 人工血管の中期成績, *日本心臓血管外科学会雑誌*, 34, 88-92 (2005)
- [17] 今村栄三郎, 沢谷 修, 小柳 仁, 野一色泰晴, 宮田暉夫 : 生体弁の石灰化防止に関するエポキシ基 (デナコール) とアルデヒド基 (グルタルデヒド) の比較研究, *人工臓器*, 17, 1101-1103 (1988)
- [18] Hideki M, Shino S, Akira S, Ryou T, Kazuki T, Yasuharu N, Yoshihisa Y : Experimental study of materials for patch graft on right ventricular outflow tract under extracorporeal circulation in dogs-comparion between Denacol EX-313-treated bovine jugular vein graft and expanded polytetrafluoroethylene (ePTFE) graft, *J Vet Med Sci*, 63, 961-965 (2001)
- [19] Hideki M, Shino S, Akira S, Ryou T, Kazuki T, Yasuharu N, Yoshihisa Y : A long term comparison between Denacol[®] EX-313-treated bovine jugular vein graft and ultrafine polyester fiber graft for reconstruction of right ventricular outflow tract in dogs, *J Vet Med Sci*, 65, 363-368 (2003)
- [20] 松本秀樹, 上月茂和, 鶴野光興, 小笠原淳子, 河野史郎, 鯉江 洋, 山根義久, 野一色泰晴 : 右室流出路拡大形成術に対するパッチグラフト (ウシ静脈処理片) の実験的応用, *J Anim Res Found*, 2, 15-22 (1993)
- [21] 山根義久 : 各種外科手術におけるデナコール処理組織片のパッチグラフトとしての臨床応用, *獣医麻酔外科会誌*, 24, 47-49 (1993)

Pulmonary Valve Replacement with Valved Conduit

Asako SHINODA^{1),2)}, Takahiro MIZUKOSHI^{1),2)}, Marina FUNAYAMA³⁾, Takeshi MIZUNO¹⁾,
Masashi MIZUNO¹⁾, Megumi FUJIWARA³⁾ and Masami UECHI^{1),2),3)†}

1) *Japan Animal Specialty Medical Institute Inc., 2-7-3 Nakagawa, Tsuzuki-ku, Yokohama, 224-0001, Japan*

2) *School of Veterinary Medicine, Kitasato University, 23-35-1 Higashi, Towada, 034-8628, Japan*

3) *College of Bioresource Sciences, Nihon University, 1866 Kameino, Fujisawa, 252-0880, Japan*

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the mobility, calcification, and anti-thrombotic properties of valved conduits for the surgical palliation of pulmonic stenosis in dogs. This study included four healthy dogs and valved conduits with two leaflets on the inner side. The three valved conduit types used in this study were autologous pericardium, denacol-treated bioprosthetic valve, and ePTFE. Postoperative echocardiography demonstrated the smooth movement of the leaflets in all valved conduit types. Histological examination of the specimens obtained six months after implantation did not show any thrombus or marked calcification. The surface of the conduit was covered by neointima, including fibroblasts, and was formed at the anastomosis of the valve. However, the long-term outcome of these implanted valved conduits requires further investigation. Nevertheless, these valved conduits may have potential applications for the surgical palliation of pulmonic stenosis in dogs.

— Key words : artificial valve, congenital heart disease, extracorporeal circulation, open heart surgery, implantation.

† *Correspondence to (Present address) : Masami UECHI (Japan Animal Specialty Medical Institute Inc.)*

2-7-3 Nakagawa, Tsuzuki-ku, Yokohama-shi, 224-0001 Japan

TEL 045-532-8451 FAX 045-532-8456

E-mail : uechi.masami@cardiovets.jp (masami.uechi@jasmine-vet.co.jp)

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 68, 49~54 (2015)