

動物モデルとしてのラット胎仔・新生仔 循環の研究：新しい方法の検討

研究協力者

東京女子医科大学心研小児科 門 間 和 夫

目 的

過去10年の私達の研究により、ラット胎生期動脈管の薬剤による収縮が解明された。その際の心不全と心肥大は、胎生期のできあがった心臓に対する後負荷の動物モデルである。この動物モデルを用いてこの問題を研究する目的で、次のような新しい研究方法を確立せんとして実験を行った。

方 法

各群毎に3～6匹の親ラットを用いた。妊娠21日、22日の胎仔を帝王切開で取り出し、直ちに-80℃のドライアイス・アセトンに投入して全身急速凍結法で固定した。凍結した胸部を凍結マイクロームで四室面、又は短軸面で切り、断面のカラー写真を撮った。1mmの方眼紙の写真をスケールに用いた。短軸面の写真を0.5mm間隔で撮り、右房、右室、左房、左室の容積、右室と左室の心筋量をそれぞれの断面積と厚さ(0.5mm)の積より求めた。

この容積と心筋量を求める方法の正確度を次のように検討した。生後20分以内のラット新生仔の心臓を切り出し、生理食塩水に入れると強い収縮状態で停止する。この心臓から心房と大血管を実体顕微鏡下に切り除き、心室のみとしてwet weightを測定し、凍結埋没剤に漬けて凍結し、0.25mm毎に凍結断面の写真をとり、次の3つの方法で容積を求めた。(1) 全ての心室断面積を合計し、0.25mm(厚さ)を乗じる。(2) 奇数番号の心室断面積を合計し、0.5mm(厚さ)を乗じる。(3) Simpsonの法則を用いて、全ての心室断面を用いて心室断面積を求め、0.25mmを乗じる。この3法による容積でそれぞれの心室重量を割り、凍結心室の比重を求める。別のラット新生仔の収縮した心室

を硫酸銅液法で比重を直接求めた。更に別のラット新生仔の収縮した心室を凍結し、0℃の濃度の異なるメチルアルコール溶液(比重0.90～0.99, 14段階)を用いて直接比重を測定した。

結 果

図1に示す如くこの方法により極めて鮮明な心臓・大血管の断面像が記録された。胎仔の心臓と生後5日の心臓を比較すると、胎仔の心臓では心房が大きく、卵円孔が左房側に開いている。右室と左室は同じ壁の厚さで、心室中隔は真直ぐである。肺動脈と肺静脈は細い。下行大動脈は太い。これに対して生後5日には右室と左室が拡大し、右室壁は薄くなり、肺動脈と肺静脈も拡大し、下行大動脈は細くなる。

心腔容積の計算方法を検討するために、10個の心室について3法で収縮心室筋量を求め、重量を割り比重を求めた結果は次のようになった。

(平均±標準偏差)

$$\text{式1} : 0.974 \pm 0.040,$$

$$\text{式2} : 0.972 \pm 0.050,$$

$$\text{式3} : 1.000 \pm 0.053,$$

又直接にメチルアルコール溶液により求めた凍結心筋の比重は0.96であった。これは式1と式2の値に近く、式3の値との差が大きい。式1と式2では有意な差が無い。この結果から、以後の計測は0.5mm間隔に行い、面積は単純な総和を求めて0.5mmを乗じて容積を求めた。

ラット胎仔の心臓短軸面での0.5mm毎の断面を図2に示す。この図から心腔の容積と心室と筋量を求めたのが表1である。なお右室と左室は同じ壁の厚さを持つので、心室中隔はその中央で右室側と左室側に分けた。この表から胎仔の右室は左

室に比べて筋量、容積共に大きく、その比はそれぞれ22日（満期）で1.26、1.40である。

考 察 と 結 語

全身急速凍結法と心臓・大血管の0.5mm幅の連

続断面写真によるラット胎仔・新生仔の心臓大血管の研究方法を確立出来た。この方法により右室、左室の容積と心筋量、右房と左房の容積を求めた。この方法によりラットを用いての胎生期と新生仔期心不全、心肥大の研究が可能となった。

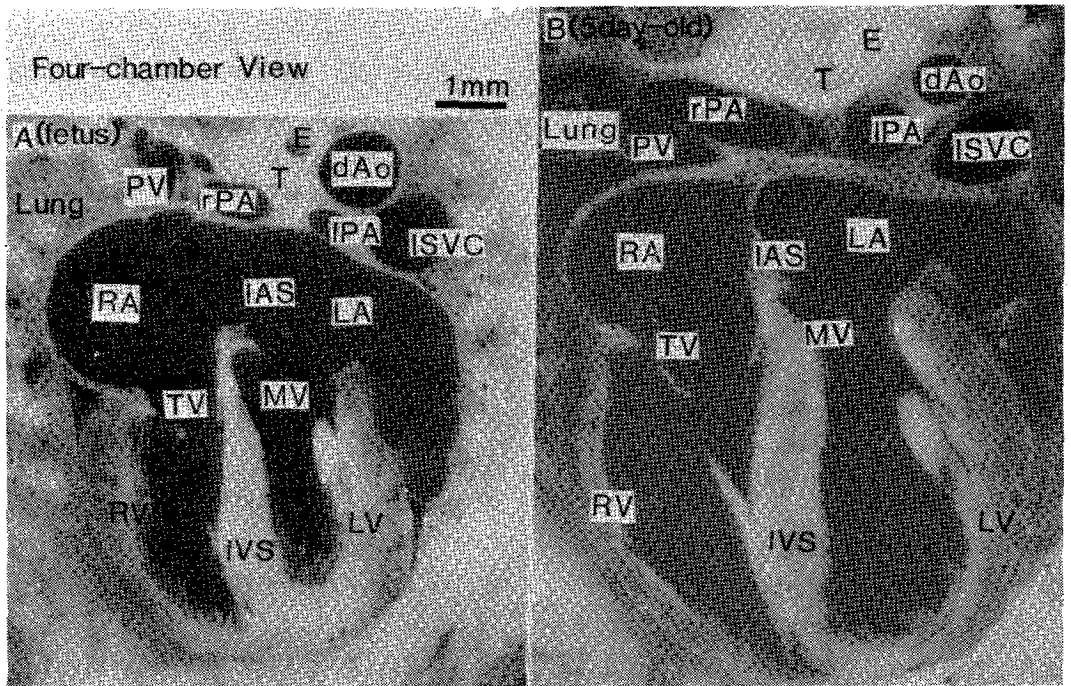


図1。ラット胎仔（21日目、A）と生後5日（B）の心臓の四室面の断面。胎仔では食道（E）と気管（T）液体が満ちている。胎仔では下行大動脈（dAo）が太いが新生仔では細くなる。胎仔では右肺動脈（rPA）左肺動脈（lPA）肺静脈（PV）が細く、新生仔では約2倍に太くなる。胎仔の右房（RA）と左房（LA）は相対的に大きい、新生仔では同じ大きさで相対的に小さくなる。心房中隔（IAS）の卵円孔は胎仔では左房に向かい、開いているが、新生仔では閉鎖している。右室（RV）の壁は胎仔では左室（LV）の壁と同じ厚さを持つが、新生仔では薄くなる。胎仔と比べて新生仔の心室は拡大しており、左室の心尖部の拡大が目立つ。

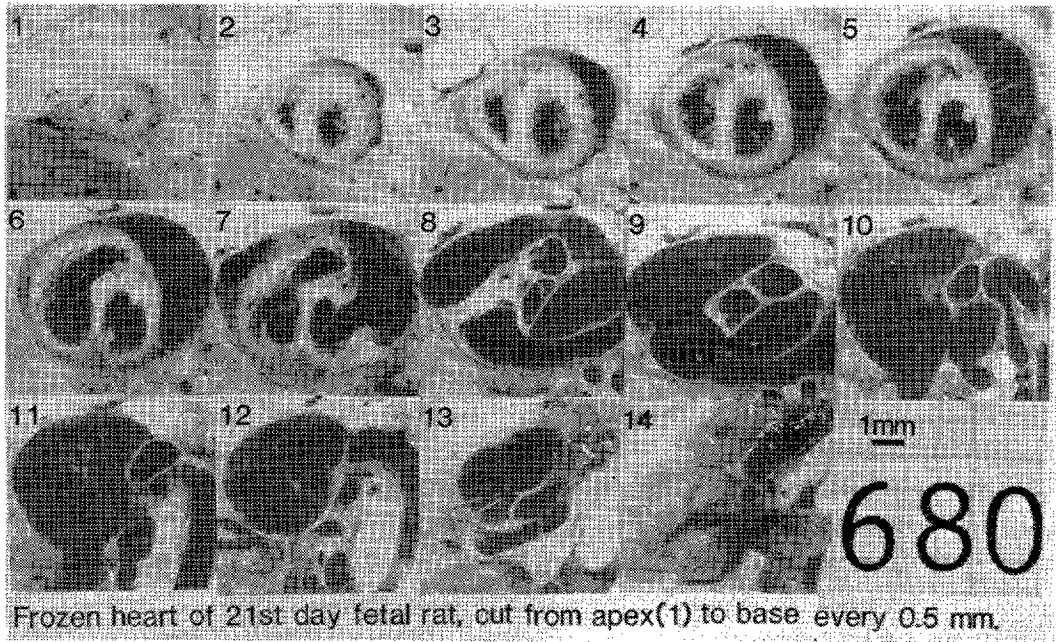
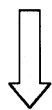


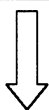
図2。ラット胎仔の心臓の心尖部から心臓基部迄の、0.5mm毎の断面図。1mm方眼紙をスケールに用いる。

表1. ラット胎仔の心室の筋量と容積, 及び心房容積。平均±標準誤差。(胎仔数)。

	胎生 2 1 日	胎生 2 2 日
体重 (gm)	5.4±0.1(8)	5.6±0.5(15)
(心室筋肉量)		
右室筋量 (cmm)	15.6±0.5(14)	18.5±1.0(15)
右室筋量/ 体重 (cmm/gm)	3.0±0.1(14)	3.1±0.1(15)
左室筋量 (cmm)	12.6±0.4(14)	14.9±1.0(15)
左室筋量/ 体重 (cmm/gm)	2.4±0.1(14)	2.5±0.1(15)
右室筋量/ 左室筋量	1.25±0.05(14)	1.26±0.05(15)
(心室容積)		
右室容積 (cmm)	3.7±0.5(14)	4.8±0.6(15)
右室容積/ 体重 (cmm/gm)	0.69±0.1(14)	0.80±0.1(15)
左室容積 (cmm)	3.0±0.3(14)	3.2±0.5(15)
左室容積/ 体重 (cmm/gm)	0.65±0.1(14)	0.61±0.1(15)
右室容積/ 左室容積	1.22±0.1(14)	1.40±0.1(15)
(心房容積)		
右房容積 (cmm)	24.0±0.9(9)	28.4±1.0(11)
右房容積/ 体重 (cmm/gm)	4.6±0.2(9)	5.0±0.2(11)
左房容積 (cmm)	15.1±0.5(9)	15.4±0.8(11)
左房容積/ 体重 (cmm/gm)	2.8±0.1(9)	2.6±0.1(11)
右房容積/ 左房容積	1.64±0.06(9)	1.88±0.09(11)



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



目的

過去 10 年の私達の研究により,ラット胎生期動脈管の薬剤による収縮が解明された。その際の心不全と心肥大は,胎生期のできあがった心臓に対する後負荷の動物モデルである。この動物モデルを用いてこの問題を研究する目的で,次のような新しい研究方法を確立せんとして実験を行った。