

心血管形成機序の解明と冠動脈の発生・発達からの  
虚血心筋への新生血管誘導法の開発

(課題番号 17390386)

平成17, 18年度科学研究費補助金 (基盤研究B)  
研究成果報告書



平成19年3月

研究代表者 富澤 康子

(東京女子医科大学心臓血管外科学講座 助手)



心血管形成機序の解明と冠動脈の発生・発達からの  
虚血心筋への新生血管誘導法の開発

(課題番号 17390386)

平成17, 18年度科学研究費補助金 (基盤研究B)  
研究成果報告書

平成19年3月

研究代表者 富澤康子

(東京女子医科大学心臓血管外科学講座 助手)

## はしがき

東京女子医科大学心臓血管外科学 富澤康子

2006年度は、基礎研究として実験室にて行った本研究以外に、人工心肺の安全教育に力をいれた。人工心肺装置を用いた体験型トラブルシューティングは今年で第2回目となり、基礎編に加えて、応用編を加えることができた。応用編では、異常の状況を把握し、原因を特定し、対処することを決断し、実際にその対処の作業を行うプログラムとした。何をするにも最も重要なのは適確な状況判断であり、考えて行動することを学ばなければならないことを認識した。

人工心肺トレーニング DVD として、「人工心肺の基本操作とトラブル対処法1」を作成し、人工臓器セミナーにおいて参加者に配布できた。体外循環の安全装置、およびセンサー類は不可欠であるにもかかわらず、アンケート調査では日本においてははまだ装着率が低いという結果であり目で見てわかる教材を作ることを目指した。

人工心肺の安全対策には、心臓外科医と技士のチームワークが重要であり、第59回日本胸部外科学会定期学術集会のハンズオンセッションに「人工心肺コース」を設けていただくことができた。分業化が著しく進んでおり、若い心臓外科医は人工心肺の知識や経験もなく、事故が起こったときの対処法をしらないままではいけないという意識を、主催者の心臓外科医がもってくださったことには感謝している。

第2回シミュレーション教育研究会を参加者38名で開催でき、四津良平先生が開会の辞を、高本眞一先生がコメントを述べてくださった。参加者からの希望をなるべく多く取り入れ、今後の活動に役立てたいと考えている。

厚生労働省から日本心臓血管外科学会、日本胸部外科学会、日本人工臓器学会、日本体外循環技術医学会の4学会と、日本医療器材工業会の1団体に、「人工心肺装置の標準的接続方法およびそれに応じた安全教育等に関するガイドライン」の委託があった。我々が作成した安全対策 DVD を添付資料にしていただけなのは幸いであった。

人工心肺シミュレータの開発を考えた。技士として初心者のために訓練用シミュレータ ECCSIM-Lite を作って頂いた。これは人工心肺の鉗子操作とツマミ操作による流量の変化と貯血槽の変化を連続に測定し、グラフに描くもので、操作経過を見直すことができ、教育効果を期待できるものにした。

人工心肺を用いた体外循環の安全対策にはまだまだ多くの課題が残っている。しかし、努力して、企業参加型の研究として今後も発展させたい。

1. 研究課題名：研究組織・研究経費・研究発表

【研究課題名】

心血管形成機序の解明と冠動脈の発生・発達からの虚血心筋への新生血管誘導法の開発  
研究課題番号 17390386

【研究組織】

研究代表者 富澤康子（東京女子医科大学心臓血管外科助手）

【研究経費】

平成 17 年度	11,200 千円
平成 18 年度	4,500 千円
計	15,700 千円

【研究発表】

学術雑誌、他

1. Tomizawa Y, Momose N. Certified perfusionists in Japan, *J Artif Organs*, 10(2): in press, 2007
2. 佐藤章、富澤康子、小森万希子、高田勝美 軽量で開閉可能な家兎耳介観察窓の開発、呼吸と循環、55:359-362, 2007
3. Murakami Y, Yokoyama M, Okano T, Nishida H, Tomizawa Y, Endo M, Kurosawa H. A novel synthetic tissue-adhesive hydrogel using a crosslinkable polymeric micelle. *J Biomed Mater Res A*, Sep 29;80A(2):421-427, 2007
4. Goya N, Gotanda K, Sasaki T, Okada M, Tomizawa Y, Toma H. Local injection of a sustained-release antiandrogen formulation into a target prostatic site: an experimental study. *BJU Int*, Jan;99(1):202-206, 2007.
5. 富澤康子、百瀬直樹：日本人工臓器学会 第2回人工心肺トラブルシミュレーション ウェットラボアンケート調査結果報告、体外循環技術、34:48-56, 2007年
6. Tomizawa Y, Hanawa T, Kuroda D, Nishida H, Endo M. Corrosion of stainless steel sternal wire after long-term implantation. *J Artif Organs*. 2006;9:61-66.
7. Sawa Y, Horiuchi T, Kishida A, Masuzawa T, Mizuguchi K, Nishimura M, Okoshi T, Shinzato T, Tatsumi E, Tomizawa Y, Watanabe H. Journal of Artificial Organs 2005: the year in review. *J Artif Organs*. 2006;9:1-7.
8. 富澤康子：人工心肺を用いた体外循環に関する心臓外科医の安全対策、【人工心肺操作コース】、胸部外科 Up to Date 2006, Postgraduate Course, 第59回日本胸部外科学会 定期学術集会 p198-203
9. 北村麻未, 五十嵐利博, 三浦貴之, 海老澤佳世, 長坂淳一, 中尾一俊, 富澤康子, 斉藤聡, 石山雅邦, 新岡俊治, 黒澤博身, 百瀬直樹. 【体外循環を安全に行うためのシミュレーション教育】 体外循環シミュレーション教育に期待される安全性の向上とシステム統一化の必要性. *人工臓器*;35(1):249-251, 2006

10. 富澤康子, 四津良平, 百瀬直樹, 安野誠, 又吉徹, 南茂, 見目恭一, 神谷勝弘. 【体外循環を安全に行うためのシミュレーション教育】 体外循環のトラブルシミュレーション ウエットラボの経験. 人工臓器;35(1):233-236, 2006
11. 又吉徹, 百瀬直樹, 南茂, 安野誠, 見目恭一, 富澤康子. 【体外循環を安全に行うためのシミュレーション教育】 ウエットラボによる人工心肺シミュレーションの検討 技術指導者の立場から. 人工臓器;35(1):219-223, 2006.
12. 百瀬直樹, 新見能成, 西田有里, 又吉盛博, 赤地吏, 富澤康子, 又吉徹, 南茂, 安野誠, 岡庭功治, 神谷勝弘. 【体外循環を安全に行うためのシミュレーション教育】 人工心肺シミュレーション回路の作製. 人工臓器;35(1):214-218, 2006.
13. Sughiura T, Nishida H, Ishitoya H, Tomizawa Y, Saito S, Endo M, Kurosawa H. Chronic expanding intrapericardial hematoma after pericardial paracentesis. J Card Surg, 21:491-493, 2006.
14. 人工臓器 第22回教育セミナー 編者: 富澤康子 発行: 日本人工臓器学会、2006年7月 p.122
15. 体外循環と補助循環 第21回教育セミナー 編者: 富澤康子 発行: 日本人工臓器学会、2005年7月
16. Tomizawa Y. Clinical benefits and risk analysis of topical hemostats: a review. J Artif Organs 2005; 8:137-42.
17. 富澤康子: 医師と技士の教育と連携はどうあるべきか、特集「体外循環」、人工臓器、34:238-240, 2005
18. 富澤康子. 人工血管開発の課題と展望. In: 許俊鋭, 斉藤明, 赤池敏宏, eds. 人工臓器・再生医療の最先端. 先端医療シリーズ 37. 東京: 先端医療技術研究所; 2005:122-125.
19. Komori M, Tomizawa Y, Takada K, Ozaki M. A single local application of recombinant human basic fibroblast growth factor accelerates initial angiogenesis during wound healing in rabbit ear chamber. Anesth Analg 2005; 100:830-4.
20. Komori M, Takada K, Tomizawa Y, Uezono S, Nishiyama K, Ozaki M. Effects of Colloid Resuscitation on Peripheral Microcirculation, Hemodynamics, and Colloidal Osmotic Pressure During Acute Severe Hemorrhage in Rabbits. Shock 2005; 23:377-382.
21. Nishida H, Tomizawa Y, Endo M, Kurosawa H. Survival benefit of exclusive use of in situ arterial conduits over combined use of arterial and vein grafts for multiple coronary artery bypass grafting. Circulation 2005; 112:I299-303.
22. Tomizawa Y. Endothelialization and functional neointima on vascular grafts in humans. Ann Thorac Surg 2005; 79:1465.
23. Sato M, Endo M, Tomizawa Y, Nishida H. Left ventricular true aneurysm with pseudoaneurysm detected five years and nine months following repair for oozing type free wall rupture. Jpn J Thorac Cardiovasc Surg 2005; 53:147-9.
24. 西田博、黒澤博身、遠藤真弘、富澤康子: 包括医療(DPC)からみた術式の選択-疾患別 IVR vs. 手術の比較- ケース2: 冠動脈疾患の治療、インナービジョン、20:19-23, 2005

25. 富澤康子：【column】A well-known aortic surgeon-Scholarly achievements D. Craig Miller、高本眞一監修 心臓外科 Knack & Pitfalls 大動脈外科の要点と盲点、文光堂 東京 2005年3月
26. 高田勝美、小森万希子、能登谷敦子、尾崎真、富澤康子：Effects of Ulinastatin on Microcirculation during excessive hemorrhage using fluid therapy, Surgical Trauma & Immunological Responses, 14: 84, 2005
27. 富澤康子：人工臓器は開発の時代から安全をより考える時代に、人工臓器、34:129-130, 2005

## この度の研究計画及び成果の概要

東京女子医科大学心臓血管外科 富澤康子

### はじめに

ここでは本研究の全貌の大まかな理解のために、研究計画および成果のエッセンスを簡単に説明する。同時にこの研究を始めるにあたっての背景、社会的意義や位置づけについても明らかにしておきたい。そうすることによって、この研究の意義および成果の意味を浮き彫りにすることができ、また、この研究により導かれた論文、さらに我々の参考論文を読むに際して、一層深い理解が得られると思われる。

### 研究の背景および目的

血管新生因子による虚血心筋への血管新生療法を Yanagisawa-Miwa が雑誌 Science に 1992 年に報告してから、虚血心筋への新生血管の誘導が興味を持たれた。現在では、心筋梗塞後の心臓に血管新生因子をプロテインとして局所注入しても、あるいは遺伝子導入を行っても、血管新生は起こらないあるいは起こりにくいことが知られている。すなわち冠動脈の発生および発達を十分に理解したうえで、molecular biology, genetics そして morphology の基礎の上に成立する血管新生療法でなければ成功しないことは明らかである。なぜなら、regional specification, cell differentiation, morphogenesis および growth が大きな鍵を握っているからである。近年、冠動脈の発生と発達についての研究報告が多くみられるようになったが、まだ解決せねばならない問題は山積している。

本研究では、発生学的に心血管形成機序を学び、冠動脈の発生・発達を理解し、虚血性心筋への新生血管誘導療法の可能性を検討することを計画した。本研究を行うことにより、臨床の現場で問題となっている外科的血行再建術では再建できない細小血

管の領域を治療する糸口がつかめる可能性があると考えた。

冠動脈は横中隔 septum transversum 由来の proepicardial organ (PEO)組織から形成されることは明らかにされたが、冠血管の発生について分子レベルでのメカニズムの研究は始まったばかりであり、冠動脈の血管新生は他の血管系と異なるのか、また同じシグナル分子が働くのか、PEO 上皮細胞が心臓に遊走を促す因子は何か、心外膜から産生されるシグナル分子が何か、それらのシグナルは他の部位での上皮-間葉転換システムとの違い、間葉細胞の制御方法、など解明されていない項目が多数ある。そのため、その解明を試み、心臓への新生血管の誘導法を開発するきっかけをつかむことを計画した。過去から使用されてきた発生・発達を解明するためのモデル生物を駆使し、最先端の分子生物学的技術および手法を用いて、冠動脈の発生と発達に関しての十分な知識を持って、虚血心筋へ新生血管を導く方法を開発することを考えた。

### 学術的な特色、独創的な点及び予想される結果と意義

①冠動脈は横中隔由来の proepicardial organ (PEO)に由来することを含め、生物発生学的に心血管形成の機序を解明する。②ニワトリ胚およびマウス胎仔を用いて正常発生の初期の段階における領域の特異化から冠動脈の発生・発達を解明する。③ PEO 細胞の接着、遊走、方向性を制御している細胞接着因子に注目する。特に VCAM-1、 $\alpha 4$  integrin が重要であると考えた。④ニワトリ胚にウズラ PEO を移植するキメラ胚に蛍光マーカーを用いる細胞標識法を用い細胞の動向を観察する。これにより PEO の広がりが見らる。⑤近位冠動脈口開口/

形成の解析を細胞死を組織学的染色にて行う。以上を本研究の特徴と考えた。

## 国内外の関連する研究の中での当該研究の位置づけ

発生初期の heart tube は心筋層と心内膜層の2層から構成される。1909年に Kurkiewicz が心外膜は静脈洞領域から発生すると報告した。以前は、心筋と心外膜は原始心臓管の外上皮 outer epithelium である共通の源から生じるとされていた。すなわち、Manasek FJ および Ho E らの研究がなされるまでは outer epithelium は心筋心外膜層 myoepicardium または epimyocardium とされたが、その後、ニワトリ胚およびマウス胎仔の観察から心外膜は静脈洞付近の proepicardial organ (PEO) から生じることが明らかになった。しかし、冠血管を構成する細胞はすべて心外膜由来かどうか、細胞系譜分化の決定時期および決定因子、原始細胞の制御方法、冠動脈の開口部位が大動脈にのみ接続する機序などを含め、明らかにされていない事項は多い。

血管新生および血管形成メカニズムの研究は著しく進んでいるにもかかわらず、臨床に役立てるほどには至っていない。虚血心筋への新生血管の誘導では細胞治療が研究されているが、こちらは臨床応用が機序の解明よりも先に行われており、試行錯誤を繰り返しているにすぎない。我々の研究は心血管形成機序の解明ばかりでなく、冠動脈の発生・発達からの虚血心筋への新生血管誘導法の開発をめざし、興味ある知見が得られるものと期待した。

## 本研究の着想に至った経緯

冠動脈の走行を Indian ink を用いて観察し、また心筋内を走行する冠動脈を可視化するために筋肉を透明化する技術の開発、冠動脈口の開口が細胞死からおこることが免疫染色によりしめされている(宮川-富田幸子、冠疾誌、2004)。PECAM などの接着因子の関与を示したり、ニワトリ胚にウズラ PEO 細胞を用いたキメラ心臓を作成、

ニワトリ胚における proepicardial organ の観察、マウス胎仔の冠動脈の走行およびウズラ胚子の冠動脈などの検討により(宮川-富田幸子、冠疾誌、2004)、一層理解が深まっている。

## 研究計画

平成 17, 18 年度の2年間での研究を計画した。

- 1 発生学的検討：冠動脈は無脊椎動物、および両生類(イモリ、サンショウウオ、ウシガエル)にはないが、ヒト、は虫類、鳥類にはある。魚類には冠血管がある種類と無い種類があり、ゼブラフィッシュにはある。冠動脈の走行にも種により特徴があり、鳥類では中隔枝は右冠動脈から分岐する。は虫類の心筋の形態および冠動脈に関しての検討(富澤康子、冠疾誌 1998) された。
- 2 冠動脈評価①【adult 脊椎動物】：マウスの冠動脈の走行、分岐の評価。麻酔下に開腹し、後大静脈よりヘパリン生食を灌流したのち、開胸して立体顕微鏡下に大動脈起始部から圧をかけて注射器で Indian ink を注入した後、心臓をホルマリンで固定し、エタノールで徐々に脱水し、最後にサリチル酸メチルと安息香酸ベンジル(1:1)溶液で筋肉を透明化する。
- 3 冠動脈評価②【脊椎動物の胎仔および鳥類の胚】：冠動脈の鋳型を作成し、発生段階の冠動脈の走行および分岐を観察する。樹脂の硬さの選択種類が多い Microfil (Flow Tech, Inc., MA, USA) の黄色を使用する。これは specific gravity: 1.04, viscosity, centipoise 25, Gel time 90 分の性質を持つ。作成方法は妊娠マウスの子宮から胎仔マウスを摘出し、臍帯血管からヘパリン生食水を注入し灌流した後、臍帯血管に Microfil を注射針を用いて注入する。筋肉の透明化は 2. と同じ。鳥類の胚においても注入法は原則として同じである。この方法では胎仔でも臍帯血管から樹脂を注入する

ために施行可能である。しかし、大血管と冠動脈の連続性がでてくるまで、冠動脈には注入されない。

4 **Proepicardial organ** の観察①【キメラ心臓に蛍光マーカーの使用】：冠動脈は横中隔由来の proepicardial organ (PEO) に由来するが、生物発生的に観察し、心血管形成の機序を解明を試みる。ニワトリ心にウズラ PEO を Manner J (Anat Rec, 255: 212, 1999)の方法にて移植したキメラ心臓を作成する。Mitotracker を蛍光マーカーとして用いる細胞標識法を行い、細胞の動向を評価する。孵卵7日目にウズラ PEO 細胞がニワトリ胚の心室後壁に広がっているのを観察し、実体普通顕微鏡での観察と同時に、実体蛍光顕微鏡での観察を行い蛍光マーカーの移動が観察されている(宮川-富田幸子、冠疾誌、2004)。

5 **Proepicardial organ** の観察②【ニワトリ胚を用いて】ニワトリは 20-21 日で孵化するが、PEO 出現は 3 日(Hamburger and Hamilton stage; HH16-17)、PEO の心筋接着は 3 日(HH18)、冠血管新生は 3.5-4 日(HH21-23)、心外膜完成は 5 日(HH26)、冠動脈-大動脈壁の開口は 6.5 日(HH29-30)で起こるといことが Tomanek RJ (Cardiovasc Res, 31 Spec :E46, 1996)および Reese DE (Circ Res, 91: 761, 2002)により明らかにされた。これらの stage を参考にする。Hamburger and Hamilton stage (HH)16 胚(約 2 日胚、)および 17 胚(約 3 日胚)の proepicardial organ を中心に、また心房と心室の間に索状の proepicardial organ に注目した。

6 冠動脈口の形成過程の観察：大動脈と血管のリモデリングに apoptosis が重要な役割を果たす。そこで、大動脈周囲に分布する盲端血管が大動脈中膜に侵入し、大動脈の内皮細胞と連結するのに apoptosis を伴っている過程を示すために、① Indian ink で冠動脈内腔を染色して、また②試料を走査電子顕微鏡的に、そして③細胞接着因子を染色して観察

する。ニワトリ胚における冠動脈の形成過程を観察するために、Indian ink で染色した孵卵 7.5 日目では多数の毛細管と、その中に太い代表血管が大動脈と接続していた。ウズラ胚における冠動脈の形成の観察では PEO 細胞の接着、遊走、方向性を制御している細胞接着因子に注目した。特に VCAM-1、 $\alpha 4$  integrin が重要であると考えた。孵卵 10 日目に PECAM 染色すると太い冠血管が形成されてくるのが観察できる。また侵入した毛細管は血流により血管平滑筋が充実し、径が太くなるという経過をとる。

7 虚血心筋への新生血管誘導法の開発：器官形成と再生の過程では再生のための細胞の供給源が重要である。更新する組織に幹細胞が重要な役割を果たすと考えた。

## 研究成果と参考論文

この報告書の研究成果 2 としてまとめた「ミズオオトカゲとグリーンイグアナの心臓の観察からの Transmyocardial perfusion に関する一考察」は虚血性心疾患を外科的に治療できない症例における新生血管誘導を考えるきっかけとなった。冠動脈の発生は未だ解明されていない因子が多い領域で、「冠動脈の発生と発達に関する最近の知見」として最近の研究の方向性を示した。基礎的な研究として、電極を工夫して手早く心電図をとるための装置を開発し「マウスの心電図計測方法-生後 5 日目の baby から adult まで」にまとめた。創傷治癒における血管新生を観察するために、ネジで開閉可能にした REC を開発し、今まで、組織が脆くて組織学的評価が不可能であった血管芽の観察を行えるようにし「軽量で開閉可能な家兎耳介観察窓の開発」にまとめた。今後の新しい知見が期待される。

参考論文は本研究を進めていく上で重要であった心臓血管外科および人工臓器領域からの論文をあつめた。日本における人工臓器の開発はまだまだ発展しており

「Journal of Artificial Organs 2005: the year in review」を review としてまとめたが、中には世界的な研究が多数引用されている。人工血管の開発は組織工学を多用する方に発展しており、以前は人工血管は植え込み後に形態が変化しないことが条件であったが、変わりつつあることを「人工血管開発の課題と展望」にて示した。人工臓器の多くに金属が多く使われているが、30年も体内に植え込まれていた標本を摘出して観察することは稀である。摘出されても廃棄物として捨てられることがほとんどであるステンレスの胸骨ワイヤーを分析し「Corrosion of stainless steel sternal wire after long-term implantation」にまとめた。この結果では、アレルギー反応などなく植え込まれていたステンレスの表面は腐食していたが、それほど強くなく、強度に影響しないと思われた。止血材料の研究をしていたときに、酸化セルロースを心筋梗塞後の左室破裂に使用した症例で、心室瘤の上に仮性瘤が形成され、切除し、標本を評価する機会を得たため「Left ventricular true aneurysm with pseudoaneurysm detected five years and nine months following repair for oozing type free wall rupture」としてまとめた。心臓血管外科での症例報告ではあるが、大変珍しい血腫症例を経験し「Chronic expanding intrapericardial hematoma after pericardial paracentesis」にまとめた。血腫には古いところと新しいところがあり、古い組織の間に出現した新しい血球を観察した。

人工心肺をもちいた体外循環の安全教育に注意が払われており、我々は何を解決せねばならないかを再度考え、「人工臓器は開発の時代から安全をより考える時代に」にまとめた。チーム医療が重要であり、体外循環操作を行う技士との連携を考え、「医師と技士の教育と連携はどうあるべきか」をまとめた。第59回日本胸部外科学会学術集会のハンズオンセッションにて心臓外科医と技士がペアで参加する人工心肺コースが設けられた。人工心肺のトラブルに対し、どう安全対策を「人工心肺を用いた体外循

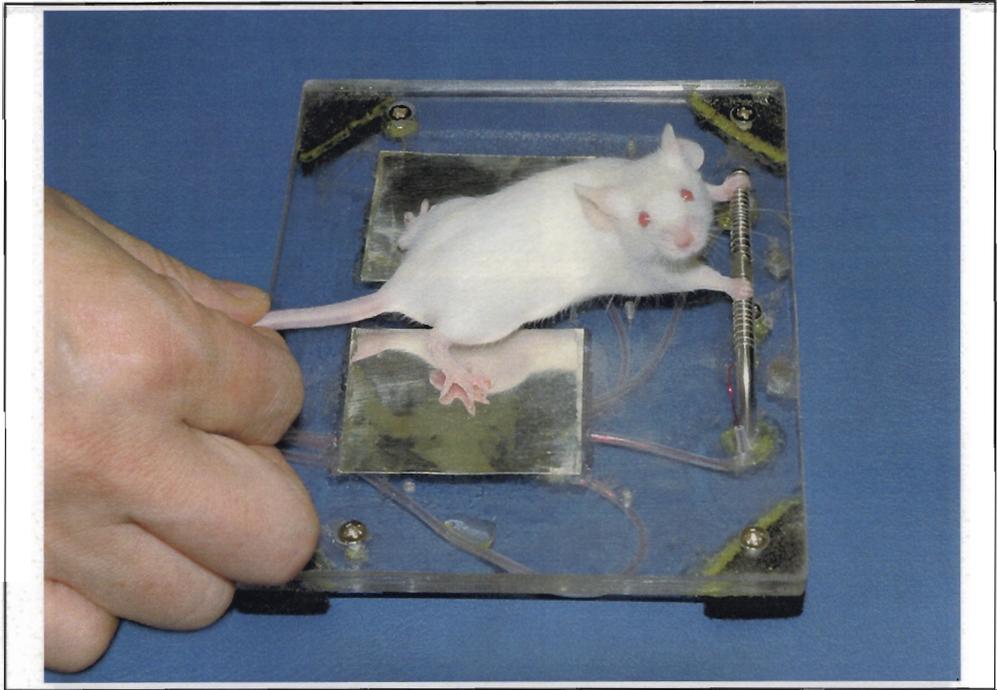
環に関する心臓外科医の安全対策」にまとめた。技士のトラブル対処の体験学習を日本人工臓器学会で行ったが、第1回目を「体外循環のトラブルシミュレーション ウエットラボの経験」と、また第2回を「日本人工臓器学会 第2回人工心肺トラブルシミュレーション ウエットラボアンケート調査結果報告」としてまとめた。人工心肺の安全教育がより充実することを希望する。

共同研究も最近では充実している。麻酔科医師とは出血性ショック時の末梢循環を評価し「Effects of Colloid Resuscitation on Peripheral Microcirculation, Hemodynamics, and Colloidal Osmotic Pressure During Acute Severe Hemorrhage in Rabbits」を、神奈川科学技術アカデミーの研究者とは外科用接着剤をナノテクノロジーを用いて「A novel synthetic tissue-adhesive hydrogel using a crosslinkable polymeric micelle」を行った。さらに泌尿器科の医師とは前立腺肥大症を局所治療により治療し、ホルモンの全身投与による合併症を減らす試みを動物実験ではあるがおこない「Local injection of a sustained-release antiandrogen formulation into a target prostatic site: an experimental study」にまとめた。

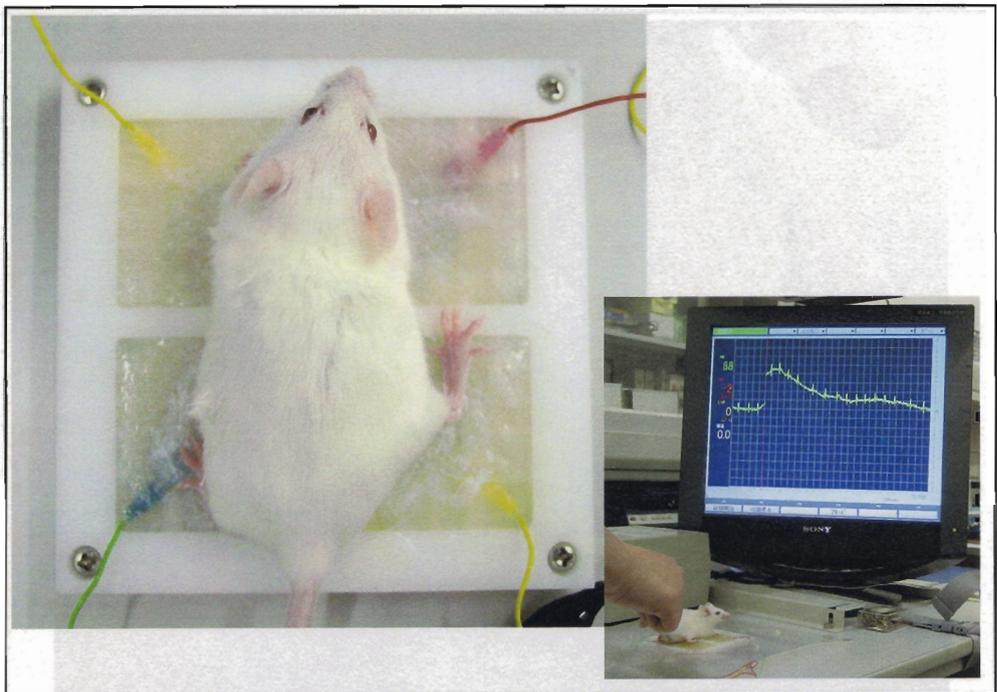
今年度は厚生労働省の委託事業として「人工心肺装置の標準的接続方法およびそれに応じた安全教育等に関するガイドライン」に委員として参加したが、引用文献に体外循環技術認定士の現状が必要になり「Certified Perfusionists in Japan」をまとめた。

## まとめ

この度は『心血管形成機序の解明と冠動脈の発生・発達からの虚血心筋への新生血管誘導法の開発』の研究を行ったが未だ解明されていない部分は多数あり、さらに研究を進めていきたい。



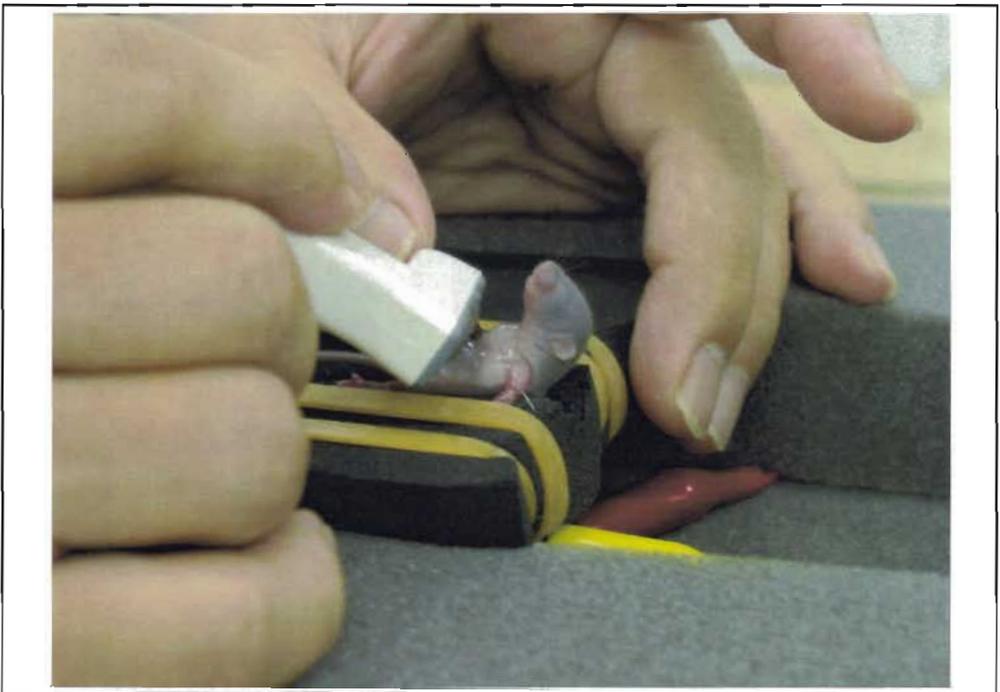
マウスの習性を利用した握り電極



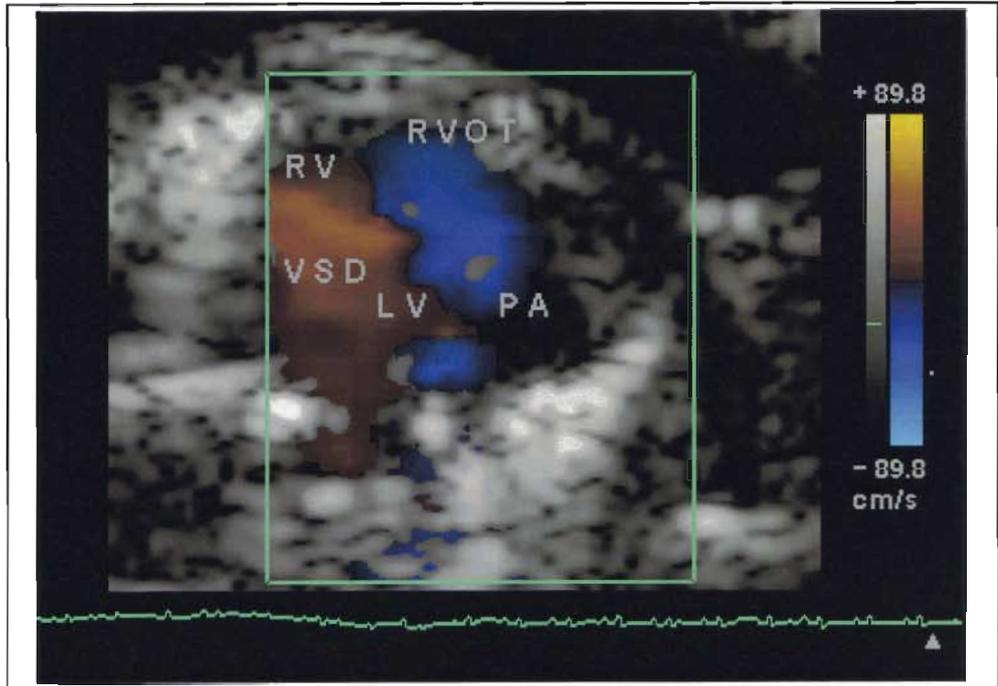
寒天電極に乗るマウス(左)とモニター上の心電図(右)



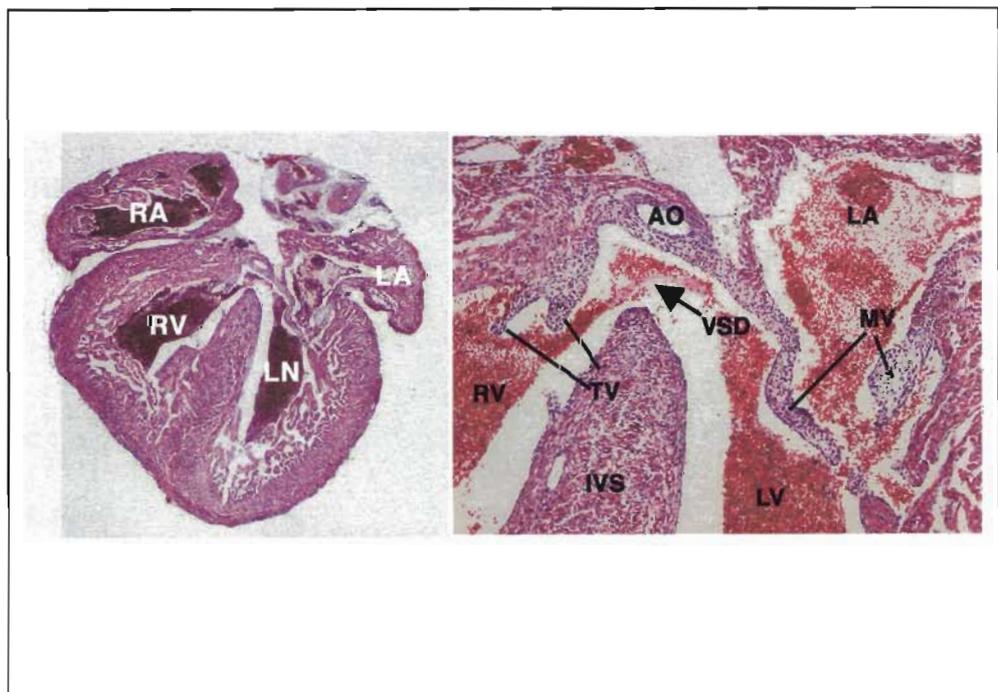
実験風景 生後5日目のbabyマウスのエコー



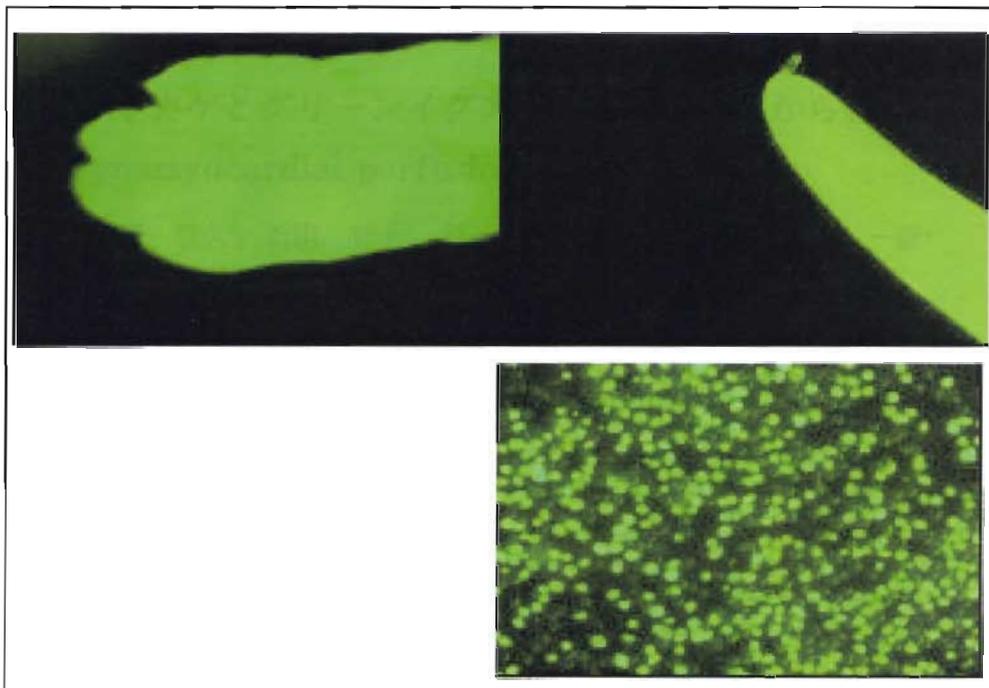
Babyマウスにエコープローブを当てる



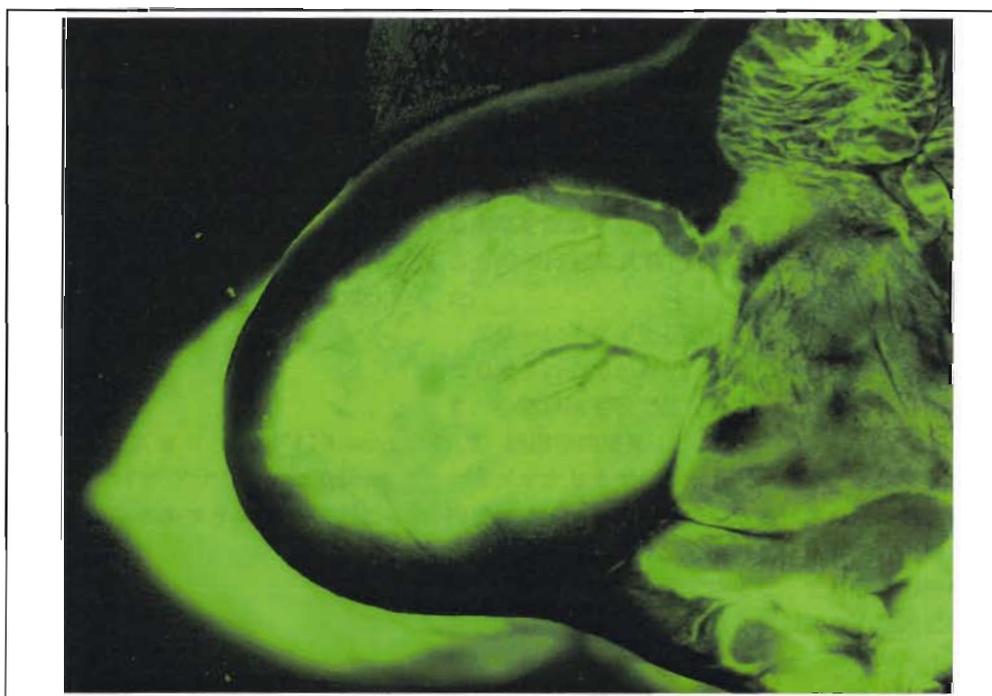
生後5日babyマウスにおいてエコー検査で検出された心室中隔欠損(VSD)



生後5日babyマウスの組織標本における心室中隔欠損  
剖検心を長軸方向に連続し切片を作成した(左)。右房が大きく、心室中隔欠損(右:←, VSD)が認められる。



GFP neonate ratの蛍光顕微鏡写真:前肢(上左)、尾先端(上右)および細胞単位にしたmyocytes(下右)



GFP neonate ratの蛍光顕微鏡写真:摘出心臓長軸