
遺伝子改変動物における心血管機能評価の開発

17500337

平成 17 年度～平成 18 年度科学研究費補助金
(基盤研究 (C)) 研究成果報告書



平成 19 年 4 月

研究代表者 富松宏文

東京女子医科大学医学部助手



遺伝子改変動物における心血管機能評価の開発

17500337

平成 17 年度～平成 18 年度科学研究費補助金
(基盤研究 (C)) 研究成果報告書

平成 19 年 4 月

研究代表者 富松宏文

東京女子医科大学医学部助手

はしがき

近年、遺伝子改変動物を用いた研究が盛んに行われるようになり、心臓病変を有する動物も数多く作成されている。これら動物の心機能や血行動態を生体で検討する試みが進んでいるが、小動物、特にマウスでは未だそのレベルは非常に低い。遺伝子改変動物の中でマウスの占める割合は非常に大きく、マウスの生体での心臓形態、心機能を評価する方法の開発が現在強く求められている。マウス用に開発された機材は乏しくヒトでの医療機器を転用しているため、非常に体の小さいマウスではその精度に限界があり、評価に値するデータを得ることは難しかった。しかし、近年の機器の技術革新は目覚ましく、マウス成獣は検査可能な対象となりつつあり、安定した心機能評価方法を確立することは、これからの実験医学に必要不可欠である。

研究組織

研究代表者： 富松宏文 (東京女子医科大学医学部助手)
研究分担者： 富田幸子 (東京女子医科大学医学部助手)
研究分担者： 森 善樹 (東京女子医科大学医学部講師)
(研究協力者： 吉原健司 東京女子医科大学心研研究部)

交付金額 (配分額)

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 17 年度	2,400,000	0	2,400,000
平成 18 年度	1,200,000	0	1,200,000
総計	3,600,000	0	3,600,000

研究発表

(1) 学会誌等

Sakamoto T, Nagase Y, Hasegawa H, Shin' ija T, Tomimatsu H, Kurossawa H (2005) One-stage intracardiac repair in combination with external stenting of the trachea and right bronchus for tetralogy of Fallot with an absent pulmonary valve and tracheobronchomalacia. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 130(6):1717-1718

Kokubo H, Miyagawa-Tomita S, Y, Saga Y, Johnson RL (2005) Mouse *hesr1* and *hesr2* genes are redundantly required to mediate Notch signaling in the developing cardiovascular system. *Dev Biol*, 278: 301-309

Kokubo H, Miyagawa-Tomita S, and Johnson RL (2005) *hesr*, a mediator of the Notch signaling in heart and vessel development. *Trends Cardiovasc Med*, 15(5):190-194

梶本英美, 中西敏雄, 富松宏文, 中澤 誠, 斉藤加代子, 大澤真木子 (2005) 筋ジストロフィーの心不全に対する ACE 阻害剤と β ブロッカー (carvedilol) の併用療法. *日小児会誌* 109(2):246

Kajimoto H, Ishigaki K, Okumura K, Tomimatsu H, Nakazawa M, Saito K, Osawa M, Nakanishi T (2006) Beta-blocker therapy for cardiac dysfunction in patients with muscular dystrophy. *Circ J* 70(8):991-994

Nakanishi T, Sakauchi M, Kaneda Y, Tomimatsu H, Saito K, Nakazawa M, Osawa M (2006) Cardiac involvement in Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. *Pediatr* 117(6): e1187-1192

Takeuchi D, Nakanishi T, Tomitatsu H, Nakazawa M (2006) Evaluation of right ventricular performance long after the atrial switch operation for transposition of the great arteries using the Doppler Tei index. *Pediatr Cardiol* 27(1):78-83

富松宏文 (2006) 上手な溢水の評価方法について. 日小児腎不全会誌
26 : 33-34.

Watanabe U, Kokubo H, Miyagawa-Tomita S, Endo M, Igarashi K, Kannno J, Saga Y. (2006) Activation of Notch1 signaling in cardiogenic mesoderm induces deformed heart morphogenesis. *Development* 133:1625-1634

Hirono K, Foell D, Xing Y, Miyagawa-Tomita S, Ye F, Ahlmann M, Vogl T, Futatani T, Rui C, Yu X, Watanabe K, Watanabe S, Tsubata S, Uese K, Hashimoto I, Ichida F, Nakazawa M, Roth J, Miyawaki T (2006) Expression of myeloid-related protein (MRP) 8 and MRP 14 in patients with acute Kawasaki disease. *J Am Coll Cardiol* 48(6):1257-64

Kajimoto H, Ishigaki K, Okumura K, Tomitatsu H, Nakazawa M, Saito K, Osawa M, Nakanishi T (2006) Beta-blocker therapy for cardiac dysfunction in patients with muscular dystrophy. *Circ J*, 70(8):991-994

Matsumura G, Ishihara Y, Miyagawa-Tomita S, Ikada Y, Matsuda S, Kurosawa H, Shin'oka T (2006) Evaluation of tissue-engineered vascular autografts. *Tissue Eng* 12(11):3075-3083

Kitajima S, Miyagawa-Tomita S, Inoue T, Kanno J, Saga Y (2006) *Mesp1*-nonexpressing cells contribute to the ventricular cardiac conduction system. *Dev Dyn* 235:395-402

Kokubo H, Miyagawa-Tomita S, Hamada Y, Saga Y (2007) *Hesr1* and *hesr2* regulate atrioventricular boundary formation in the developing heart through the repression of *Tbx2*. *Development* 134:747-755

(2) 口頭発表

Nakashima Y, Miyagawa-Tomita S, Nakazawa M (2005, May 19-21) Effect of high dose norepinephrine stress in late fetal phase of chick fetus.

Weinstein Cardiovascular Development Conference, 123-124, Tucson, AZ, USA.

Miyagawa-Tomita S, Imanaka-Yoshida K, Saga Y, Johnson RL (2005, May 19-21) Tenascin-C may regulate behavior of proepicardial organ-derived cells. Weinstein Cardiovascular Development Conference, 117-118, Tucson, AZ, USA.

富松宏文, 梶本英美, 池田亜希, 中西敏雄, 中澤 誠 (2005年5月) エコー診断が可能であった冠静脈洞型心房中隔欠損症の2例. 超音波医 32 Suppl, S521

中島多英, 中西敏雄, 奥村謙一, 梶本英美, 富松宏文, 山村英司, 森 善樹, 中澤 誠 (2005年7月6-8日) Midaortic syndrome に対するカテーテル治療. 第41回日本小児循環器学会, 21-3, 363, 東京

池田亜希, 中西敏雄, 山村英司, 富松宏文, 森 善樹, 新岡俊治, 黒澤博身, 中澤 誠 (2005年7月6-8日) 第41回日本小児循環器学会, 21-3, 359, 東京

富松宏文, 中西敏雄, 中澤 誠 (2005年7月6-8日) 新生児, 乳児期無脾症候群の自然歴と術後歴の検討. 第41回日本小児循環器学会, 21-3, 358, 東京

中西敏雄, 山村英司, 森 善樹, 石井徹子, 富松宏文, 黒澤博身, 中澤 誠 (2005年7月6-8日) わが国における小児カテーテル治療の到達点と今後の課題 肺動脈狭窄に対するカテーテル治療の到達点と今後の課題. 第41回日本小児循環器学会, 21-3, 243, 東京

中寫八隅, 宮川・富田幸子, 中澤 誠, 小久保博樹 (2005年7月6-8日) 成獣 *hesr2* ノックアウトマウスの心機能解析. 第41回日本小児循環器学会, E1-24, 東京

Ikeda A, Nakanishi T, Yamamura H, Tomimatsu H, Mori Y, Shin'oka T, Kurosawa H (2005, Nov) Long-term Results of the Double Switch Operation for Corrected Transposition of the Great Arteries.

American Heart Association, ScientificSession. Circulation 112 (17)Suppl:681, Dallas, USA

藤田修平, 高橋一浩, 富松宏文, 中澤 誠 (2005, 11) フォンタン術後患者におけるペースメーカー治療. 第10回日本小児心電学研究会, 日小児循環器会誌 4:498、新潟

小久保博樹, 宮川・富田幸子, 相賀祐美子 (2005年12月7-10日) *hesr1* と *hesr2* の心臓 chamber formation における役割. 第28回日本分子生物学会、講演要旨集 3P-0713、福岡

北嶋 聡, Fishman GI, 富田幸子, 井上 達, 菅野 純, 相賀祐美子 (2005年12月7-10日) 転写因子 *Mesp1* 非発現細胞はマウス刺激伝導系細胞に寄与する。第28回日本分子生物学会、講演要旨集 3P-0655、福岡

池田亜希, 中西敏雄, 富松宏文, 山村英司, 森 善樹, 石井徹子, 中澤 誠, 新岡俊治, 黒澤博身 (2006, 1) 修正大血管転移症における心内修復術後の長期予後. 第8回日本成人先天性心疾患研究会, 日小児循環器会誌 4:484、東京

西田純子, 高橋一浩, 石井徹子, 山村英司, 富松宏文, 森 善樹, 中西敏雄 (2006, 1) 原因不明の不整脈と左心不全をきたし、急激な経過をたどった新生児の一例. 第15回関東小児心筋疾患研究会抄録集、14, 東京

奥村謙一, 富松宏文, 中西敏雄, 中澤 誠, 中倉兵庫, 服部元文 (2006, 4) 小児腎移植患者における血管内皮機能の検討. 第109回日本小児科学会, 110 : 319, 金沢

藤田修平, 高橋一浩, 鈴木嗣敏, 富松宏文, 中澤 誠, (2006, 4) フォンタン手術患者におけるペースメーカー治療. 第109回日本小児科学会 110(2) : 246, 金沢

Kokubo H, Miyagawa-Tomita S, Saga Y (2006, May 11-13) *hesr1* and *hesr2* regulate atrioventricular boundary formation in the mouse

heart. 12nd Weinstein Cardiovascular Meeting, G72, 70-71, Tampa, FL, USA

富松宏文, 石井徹子, 中西敏雄, 中澤 誠 (2006, 5) 血流パターンの経時
的变化を認めた右冠動脈肺動脈起始症の一例. 超音波医学 33 Suppl :
S347, 大阪

吉岡朋子, 宮川・富田幸子 (2006, May 31-June 3) 鶏胚心の流出路におけ
るアポトーシス. 第39回日本発生生物学会、2P028, 207, 広島.

藤田修平, 高橋一浩, 中澤 誠, 鈴木嗣敏, 富松宏文, 中西敏雄 (2006, 7) 不
整脈の治療 先天性心疾患患者におけるペースメーカー治療. 第42回日本
小児循環器学会, 22(3):251, 名古屋

池田亜希, 中西敏雄, 篠原徳子, 石井徹子, 富松宏文, 山村英司, 森 善樹,
新岡俊治, 黒澤博身, 中澤 誠 (2006, 7) 当院における修正大血管転移症
の治療と予後. 第42回日本小児循環器学会, 22(3):275, 名古屋

中島多英, 中西敏雄, 石井徹子, 富松宏文, 山村英司, 森 善樹, 中澤 誠,
(2006, 7) 無脾症候群患者における重症感染症と感染による突然死の頻
度. 第42回日本小児循環器学会, 22(3):341, 名古屋

西田純子, 中西敏雄, 山村英司, 篠原徳子, 石井徹子, 富松宏文, 森 善樹,
新岡俊治, 黒澤博身, 中澤 誠 (2006, 7) Fontan術後遠隔期における
failing Fontanの頻度. 第42回日本小児循環器学会, 22(3):328, 名古屋

富松宏文, 中西敏雄, 中澤 誠, 黒澤博身 (2006, 7) Fontan手術後遠隔期に
TCPC conversionを行った症例の検討. 第42回日本小児循環器学
会, 22(3):244, 名古屋

中畷八隅、中澤 誠、宮川・富田幸子 (2006, July 13-15) 胎生後期鶏胚
の高濃度エピネフリン負荷の影響. 第42回日本小児循環器学会,
III・P・46, 430, 名古屋.

小久保博樹, 宮川・富田幸子, 相賀裕美子 (2006, July 15) *Hesr1/Hey1*
および *Hesr2/Hey2* は心臓形成過程で心房と心室の境界決定に関与す

る. 第5回心臓血管発生研究会, 3, 名古屋

竹内大二, 高橋一浩, 富松宏文, 中西敏雄 (2006, 9) 16歳以降に Fontan 術を施行した症例の長期経過. 第54回日本心臓病学会 J Cardiol 48Suppl: 587, 鹿児島

富松宏文, 中西敏雄, 黒澤博身 (2006, 9) 成人期に再手術を必要とした先天性心疾患患者の検討. 第54回日本心臓病学会 J Cardiol 48Suppl: 588, 鹿児島

池田亜希, 森 善樹, 富松宏文, 山村英司, 石井徹子, 新岡俊治, 黒澤博身, 中西敏雄 (2006, 9) 修正大血管転位症の治療と予後. 第54回日本心臓病学会 J Cardiol 48Suppl: 343, 鹿児島

(3) 出版物・総説

富松宏文 (2005) 【難治性心不全 非薬物治療の最前線】 識る どのようなプロセスで難治性心不全に陥るか 先天性心疾患. Heart View 9 (10) : 1094-1100

Miyagawa-Tomita S and Nakazawa M (2005) Editorial: Cardiac neural crest. In: Cardiovascular development and congenital malformations. Molecular and genetic mechanisms. M Artman, et al., eds., Blackwell, Futura, New York, pp.137-140.

富松宏文 (2005) 小児循環器 そこが知りたい G&A 先天性心疾患-外来フォロー 先天性心疾患の子どもに対して感染性心内膜炎への注意や予防が必要なのはどんなときでしょうか? 小児内科 37 (12) ; 1654-1658

富松宏文, 泉田直巳 (2006) 動画像による先天性心疾患のエコー診断トレーニングシステムの研究. エム・オー・エー健康科学センター研究報告集 11 : 63-74.

宮川・富田幸子, 小久保博樹 (2006) Notch シグナルと心内膜床形成. 分子心血管病 7(2):55-63.

宮川・富田幸子 (2006) 心臓の発生と先天性心疾患、そして再生医療への展望. 座談会. 分子心血管病7(2): 1-9

小久保博樹, 宮川・富田幸子, 相賀裕美子 (2006) 心臓・血管形成と Notch シグナル. 医学のあゆみ 217(12):1083-87

宮川・富田幸子 (2006) 心臓発生に関する基礎知識. 第5回心臓血管発生研究会テキスト Pp.3-10.

宮川・富田幸子 (2006) 心内膜床の形成. 第5回心臓血管発生研究会テキスト Pp.39-47.

宮川・富田幸子 (2006) 刺激伝導系の発生. 第5回心臓血管発生研究会テキスト Pp.59-65.

刺激伝導系の発生・生理と臨床 (印刷中) メディカルビュー社 (臨床心臓発生学)

(4) 翻訳 (日本語訳)

宮川・富田幸子 (2006) 心臓病学. The Year in Small Animal Medicine (診療に活かせる論文解説2005). 長谷川篤彦 監修. JE Maddison, MG Papich, eds. pp. 257-274.

宮川・富田幸子 (2006) 心臓病学. 小動物臨床のための5分間コンサルト (第3版) 犬と猫の診断・治療ガイド. 長谷川篤彦 監修. LP Tilley, FWK Smith Jr, eds. The 5-MinuteVeterinary Consult - canine and feline, 3rd ed. pp. 890-1036.

(5) セミナー・シンポジウム

Sachiko Miyagawa-Tomita (Nov 17, 2005) Cardiovascular anomalies in hesr2 knockout mice. At Dr. Antonio Baldini, Dept of Pediatrics, Baylor College of Medicine, Houston, TX, USA

Miyagawa-Tomita S (2006, May 15) Cardiogenesis and Notch signaling. Dr. Hideko Kasahara, Dept of Physiology and functional genomics seminar series, Univ Florida, Gainesville, FL, USA

藤田修平, 高橋一浩, 篠原徳子, 山村英司, 富松宏文, 石井徹子, 森 善樹, 中西敏雄 (2006, 9月) 成人にみられる先天性心疾患の管理:小児科・内科・外科の立場から 成人先天性心疾患における心不全の管理. 第54回日本心臓病学会 J Cardiol, 48 Suppl 164, 鹿児島

(6) 紀要報告書

宮川-富田幸子、中畷八隅、富松宏文、中澤 誠 (2005) 心臓血管発生・発達に関与する遺伝子群の検討 —心外膜前駆組織由来細胞の心臓内の動向とテネイシンの役割—。東京女子医科大学総合研究所、2004 年度報告書、紀要 25: pp54-55.

研究成果

成獣マウスの麻酔は、avatin がよく使われるようなので当初、作成して使用したが心機能測定には効果が不十分で、実験中に覚醒してしまい測定不能になることが多いため avatin の使用は中止した。文献で調べた結果、心機能測定には以下の方法が良く用いられ、安定した測定値を得ることが予測できたため、以下の2つの方法で実施した。最近(2007年4月より) ketamin が麻薬指定となったため今後は、ketamin の使用は中止してペントバルビタールで安定した麻酔を目指す予定である。

- (1) xylazine (0.005mg/g of body weight) と ketamin (0.1mg/g of body weight) の混合液の腹腔内投与。
- (2) isoflurane 単味、または isoflurane と ketamin の同時投与。

(1) では、混合液を腹腔内に注射する (Nat Med 8(5):459, 2002)。これらの溶液は予め注射用蒸留水 (DW) で希釈した。Xylazine (20mg/ml) 原液を、原液 0.1 ml (2mg に相当) と DW 1.9 ml を混合し Xyla 希釈液 (1 mg/1 ml) とした。Ketamine (50mg/ml) 原液を、原液 0.1 ml (5 mg に相当) と DW 0.9 ml を混合し Keta 希釈液 (5 mg/1 ml) とした。これらを使用直前に準備した。これら希釈液は時間経過と共に効果が薄れることが判明したので、2時間毎に作成し直した。マウスの体重を測定後、体重 10g 当たり Keta 希釈液 0.2 ml と Xyla 希釈液 0.05 ml とり混合後、すぐに腹腔内に注射した。この一覧表を表 1 (12 ページ) に示した。この麻酔方法では約 30 分位の麻酔時間となり、比較的安定した麻酔を維持できた。

(2) では、考案したマウスキーパー (図 13) を用いて isoflurane ガスを充満させた中にマウスの麻酔導入を実施し、その後、マウスを取りだしてすぐに引き続き isoflurane ガスをマウス用でマスク吸入させながら、電極保定台上で保定し、心エコーや心電図を測定した。この麻酔法は、麻酔を中断するとすぐに覚醒するため、マウスにとって麻酔の負担が軽いと考えられる。

表1. Ketaral と Xylazine 調整量の一覧表

薬剤は 保存して 100% 原液まで
 調整量について 毎回確認が必要
 2002/8/19 (100% 原液まで)

Ketamine org=50mg/ml=5mg/0.1ml+DW0.9ml---Dilu-Keta=5mg/1ml

Xylazine orig=20mg/ml=2mg/0.1ml+DW1.9ml---Dilu-Xyl=1mg/1ml

Nat Med:2002:8(5):459

Keta 0.1mg/g of BW

Xyl 0.005mg/g of BW

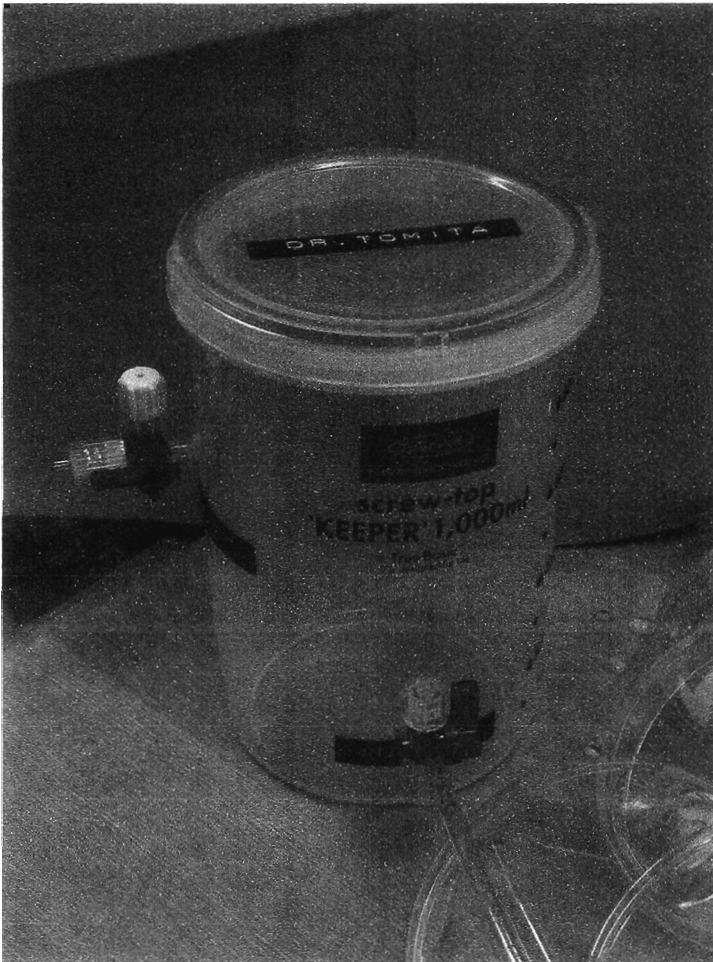
2002/8/19
 good result

調整量はやや少なめに!
 0.005mg/ml
 0.25g/20ml

BW (g)	Ketamine (mg)	Xylazine (mg)	BW (g)	Ketamine (ml)	Xylazine (ml)
10	1	0.05	10g	0.2	0.05
11	1.1	0.055	11g	0.22	0.055
12	1.2	0.06	12g	0.24	0.06
13	1.3	0.065	13g	0.26	0.065
14	1.4	0.07	14g	0.28	0.07
15	1.5	0.075	15g	0.3	0.075
16	1.6	0.08	16g	0.32	0.08
17	1.7	0.085	17g	0.34	0.085
18	1.8	0.09	18g	0.36	0.09
19	1.9	0.095	19g	0.38	0.095
20	2	0.1	20g	0.4	0.1
21	2.1	0.105	21g	0.42	0.105
22	2.2	0.11	22g	0.44	0.11
23	2.3	0.115	23g	0.46	0.115
24	2.4	0.12	24g	0.48	0.12
25	2.5	0.125	25g	0.5	0.125
26	2.6	0.13	26g	0.52	0.13
27	2.7	0.135	27g	0.54	0.135
28	2.8	0.14	28g	0.56	0.14
29	2.9	0.145	29g	0.58	0.145
30	3	0.15	30g	0.6	0.15
31	3.1	0.155	31g	0.62	0.155
32	3.2	0.16	32g	0.64	0.16
33	3.3	0.165	33g	0.66	0.165
34	3.4	0.17	34g	0.68	0.17
35	3.5	0.175	35g	0.7	0.175
36	3.6	0.18	36g	0.72	0.18
37	3.7	0.185	37g	0.74	0.185
38	3.8	0.19	38g	0.76	0.19
39	3.9	0.195	39g	0.78	0.195
40	4	0.2	40g	0.8	0.2

- (3) マウスの体重を測定後、すぐに isoflurane ガスを充満させたマウスキーパー容器（図 1）に入れ、麻酔がかかるまでここに隔離した。

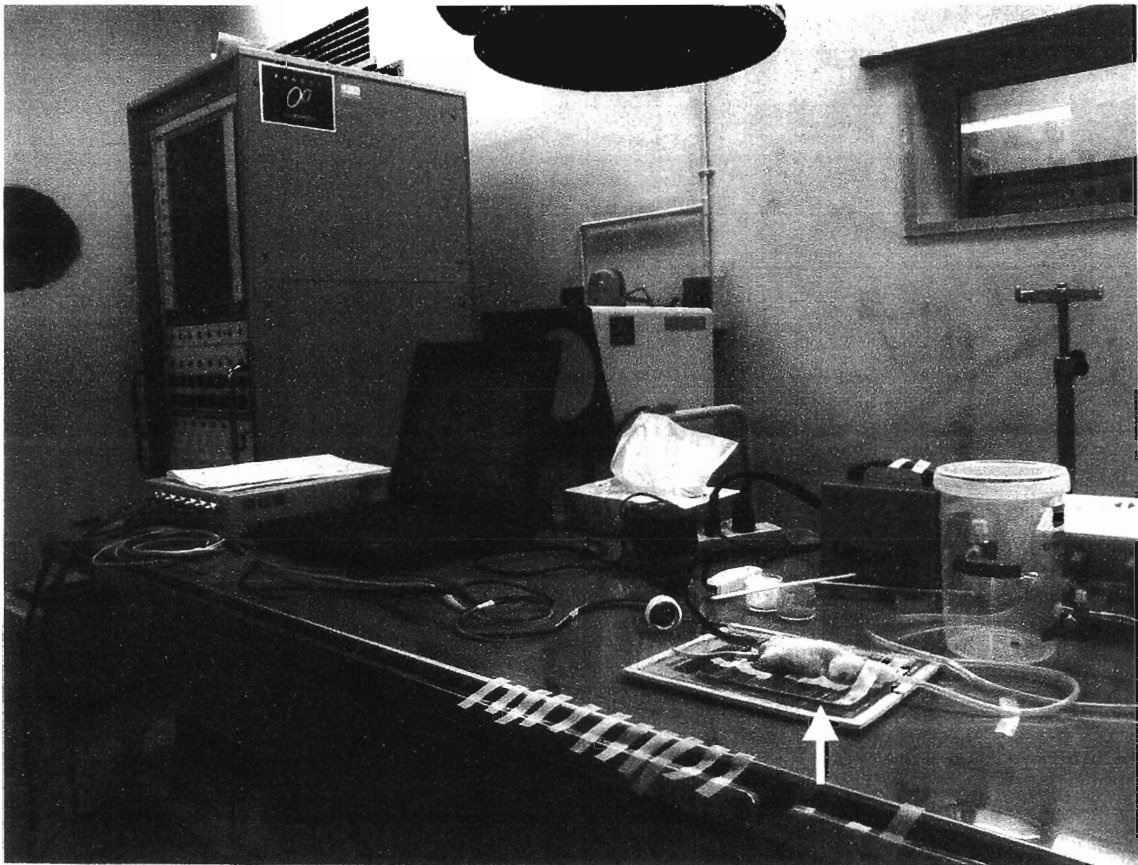
図 1 考案したマウスキーパー



このマウスキーパーは市販のタッパウェア1000ml 用の容器を利用して側面の上端と下端にチューブを接続できるように三方活栓をとりつけた。この中に予め気化させた isoflurane ガスを充満させて、マウスを一次隔離する。マウスが容器の底で麻酔導入した頃、マウスを取りだして電極保定板に保定する。常に注意することはできるだけ体温保持のための保温である。

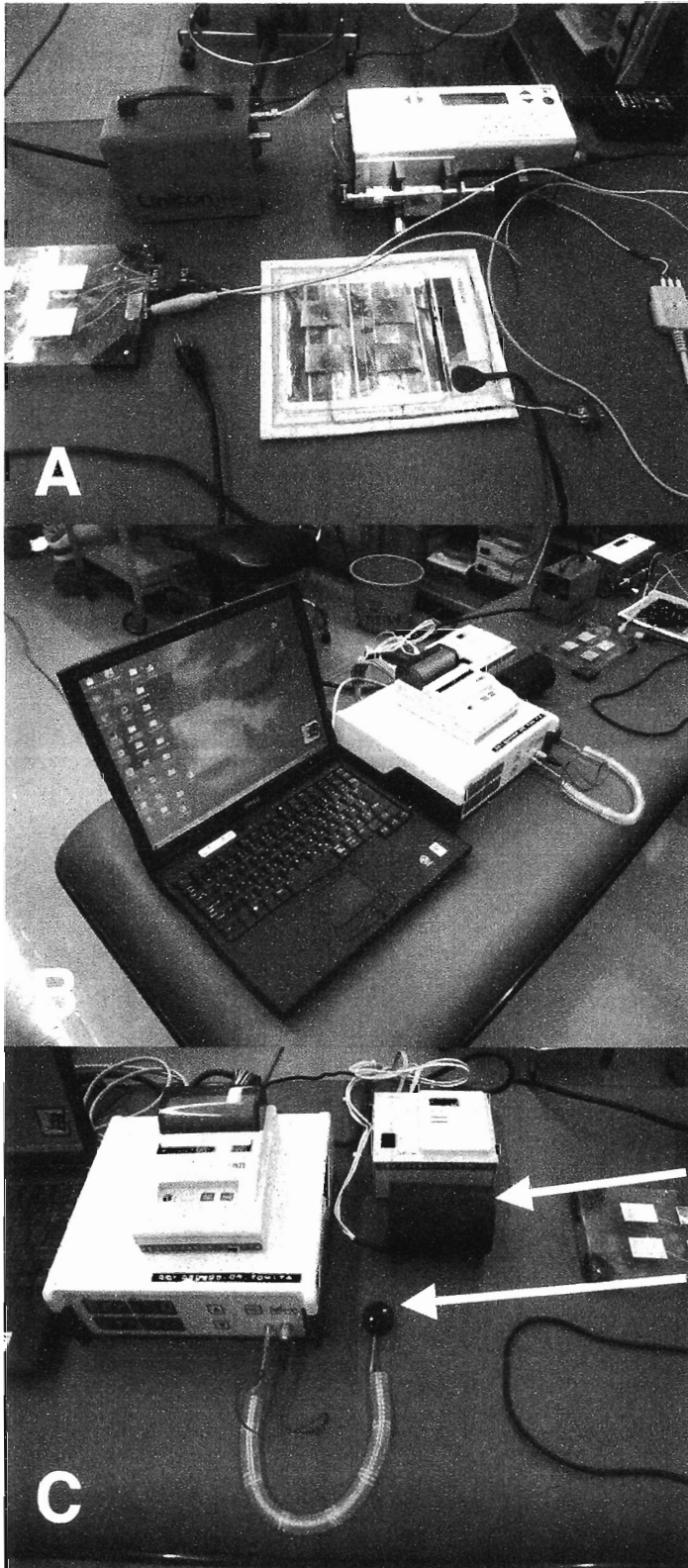
実際にマウスをマウスキーパーで麻酔導入後、容器から取りだしたマウスにマウス用マスクで isoflurane ガスを吸入させながら保定台に保定する。保定台への保定は外科用テープで四肢を固定した。

図 2. 考案した初代電極保定板に麻酔用マスクを装着したマウスを保定。



マウス用マスクを装着したマウスを、考案した初期電極保定板に保定した(白矢印)。初期電極保定板は銅板をとりつけてある。マウスを電極板に保定後、直ちに心電図を測定した。この時点では、アナログ式のポリグラフ(左端、青色の機械)を用いて心電図用紙で心電図をアナログ測定後、すぐにスイッチを切り替えて、テーブル上にあるコンピュータデジタルで心電図を測定した。

図 3. マウス用血圧測定器と新旧の電極保定板



(A)
小動物用イソフルレン麻醉器
（手前に isoflurane 液の入っ
た注射器を装着）とミニコンプレッサー（オレンジ色）。ミニ
コンプレッサーで空気を送り、
麻醉器にとりつけたイソフル
レン液を気化する。下は左側が
新しい電極保定板と右側が古
い電極保定板。

(B)
PC と連動したマウス用血圧
測定器。右手奥に (A) のセッ
トが見える。

(C)
マウス用血圧測定器。
太い円筒形容器にマウスを入
れて保温する。
丸いリングにマウスの尾を挿
入する。マウスが十分に落ち着
いてから血圧を測定する。この
場合は、ほとんど無麻酔のマウ
ス血圧を測定する。

表2. 成獣マウス血圧データの比較

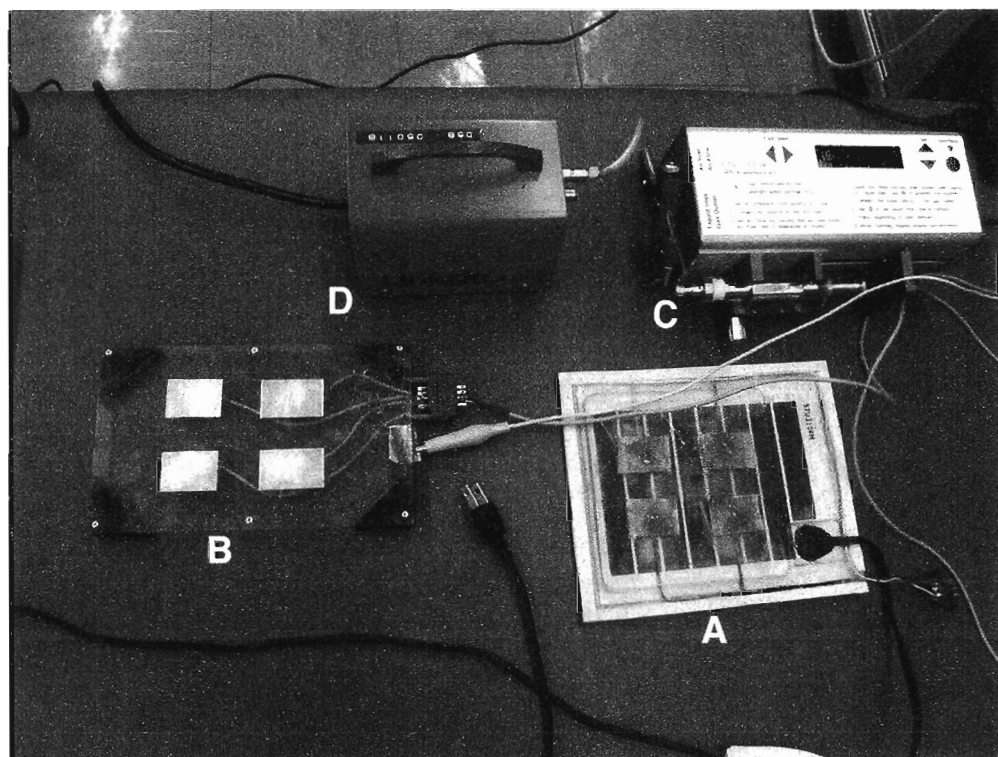
C57B6J 8wks, male isofluren ane

	Pre	D3	D7	D14	D17	D21	D28	D31	D35	D42	D45	D49	D56
Wild-59-PBS	96	88	92.3	100.3	103.7	98.8	106	106	102.7	90.7	95.7	87.8	100.5
Wild-91-PBS	100.7	86.5	97	105.5	101.3	112.3	118	103	100	100.5	108	105	112.5
Wild-92-PBS	98	111	103	95	117	103.5	88	104	107	97	100.3	101	105.3
AV	98.2	95.2	97.4	100.3	107.3	104.9	104	104.3	103.2	96.1	101.3	97.9	106.1
SD	2.4	13.7	5.4	5.3	8.5	6.9	15.1	1.5	3.5	5	6.2	9	6

	Pre	D3	D7	D14	D17	D21	D28	D31	D35	D42	D45	D49	D56
Wild-59-PBS	67	58.7	74	77.7	76	73.5	76.3	79.7	72	73	63.3	63.8	74
Wild-91-PBS	71.3	62	71.5	78	69	84.7	78.3	84	72.7	80.5	79.5	80.7	85.5
Wild-92-PBS	69	77	81	71.3	84	75.5	67	77	81.7	78.5	79.3	75	82
AV	69.1	65.9	75.5	75.7	76.3	77.9	73.9	80.2	75.5	77.3	74	73.2	80.5
SD	2.2	9.8	4.9	3.8	7.5	6	6	3.5	5.4	3.9	9.3	8.6	5.9

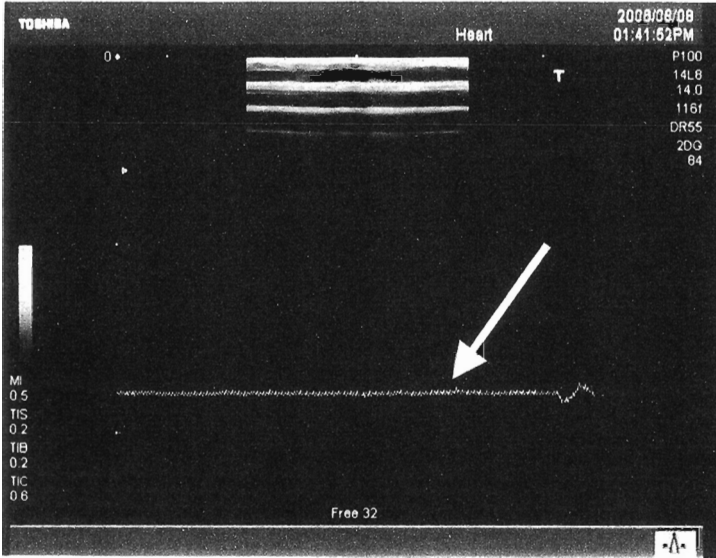
	Pre	D3	D7	D14	D17	D21	D28	D31	D35	D42	D45	D49	D56
Wild-59-PBS	490	465.3	479.3	578.3	506.7	498.3	568.3	560	596	592	465.7	555.5	615
Wild-91-PBS	495	494	528.5	545	545.3	492.3	498.7	522.3	563	561	559.5	611	587
Wild-92-PBS	527.3	514	540	655.7	504	497	541.5	523.5	531.7	522	586.7	590	613.3
AV	504.1	491.1	515.9	593	518.7	492.5	536.2	535.3	563.6	568.3	537.3	585.5	605.1
SD	20.2	24.5	32.2	56.8	23.1	8.9	35.1	21.4	32.2	35.1	63.5	28	15.7

図 4. 2枚の考案電極保定板 (A, B) と小動物用イソフルレン麻酔器 (C) とミニコンプレッサー (D)

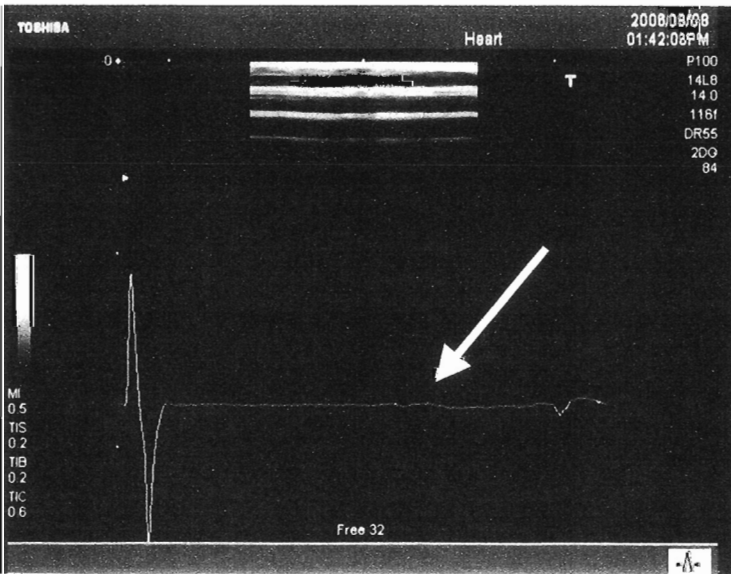


電極板を2種類作成した。銅板をとりつけた初期の電極板 (A) は、基線をチェックしたところ大きなノイズを拾ってしまった (図 5a)。これでは微弱な P 波をとらえることはできない。しかし、銀電極板をとりつけて改良 (B) したところ基線はほぼ平坦となった (図 5b)。

図 5. 新旧電極保定板でのノイズの比較

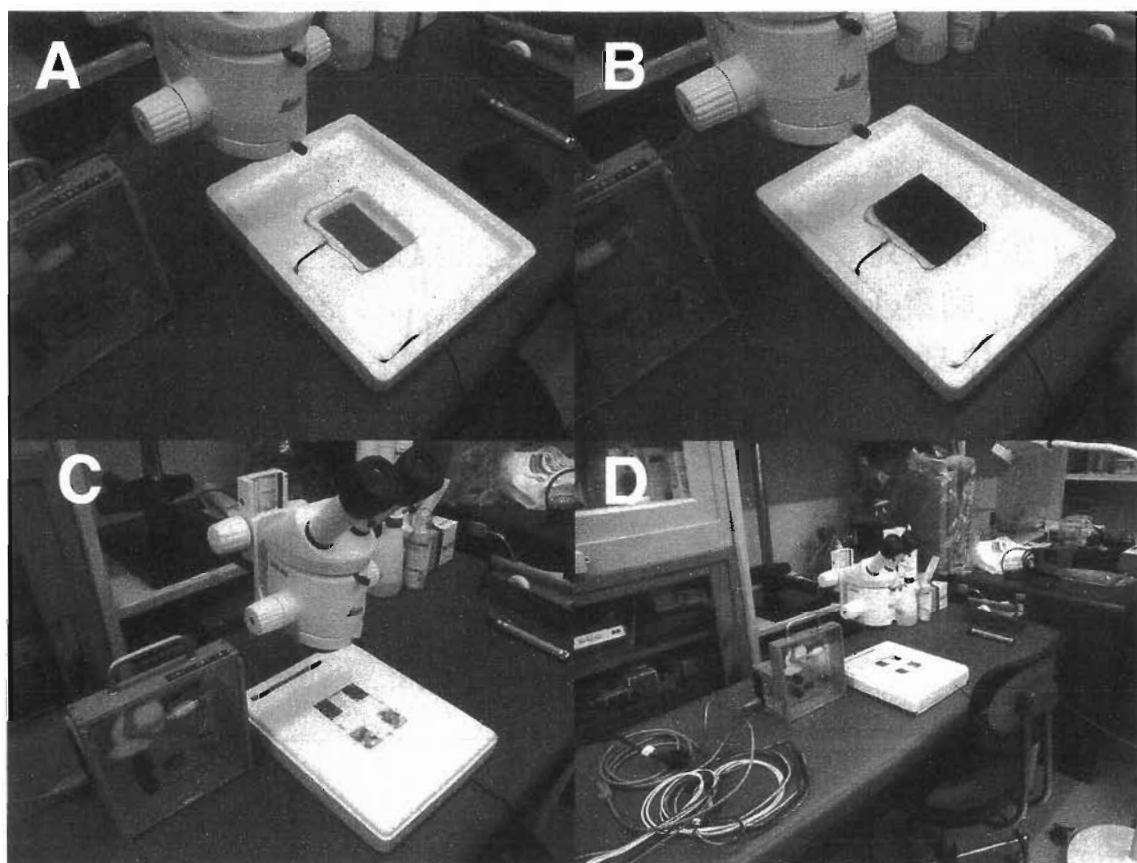


(A) 銅電極板でとった基線。
細かいノイズがみられ、微
弱なP波が判定できない。



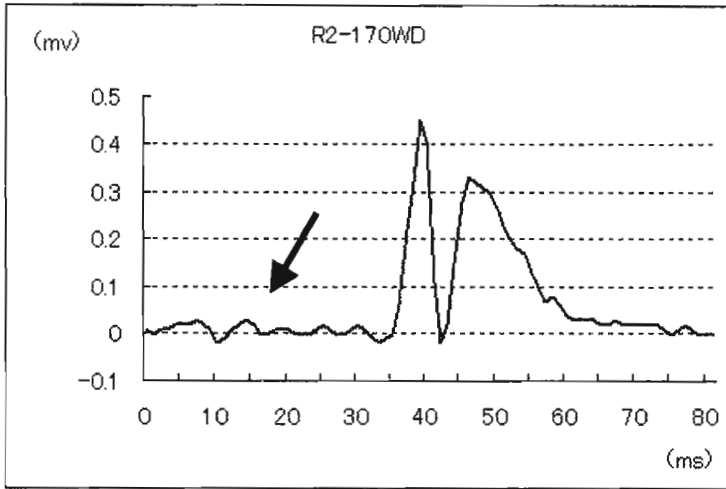
(B) 銅電極板で測定した
基線。ほとんど平坦な基線
のため、微弱なP波が判
定できる。

図 6. 厚型発泡スチロール板を利用した最新改良型の電極板

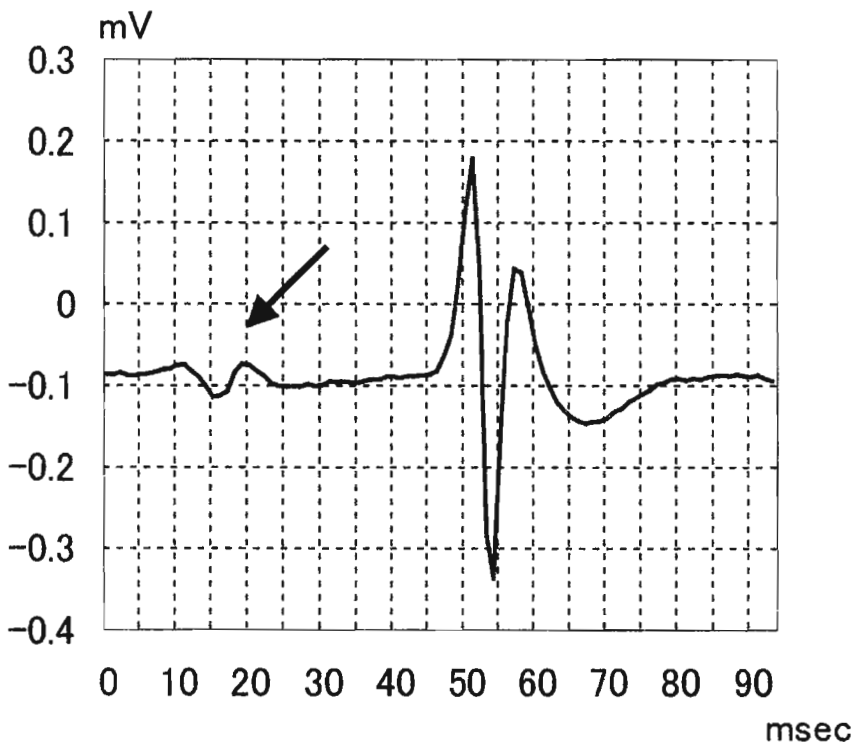


厚型発泡スチロール板を利用して、最新型電極保定板を開発した。現在すでに使用している。発泡スチロール板の裏面を少し彫って、保温のための小型ホカロンをおく (A)。ホカロンはノイズを発生しないため保温に適している。少し固めのスポンジでこのホカロンを固定する (B)。表面には、銀電極板をはりつけてある (C, D)。

図 7. マウス心電図の比較



初期の銅電極板で測定した心電図。微弱なP波が不明である。



銀電極板で測定した心電図。微弱なP波を明確にとらえることができた。このP波は2峰性であることが判明した。

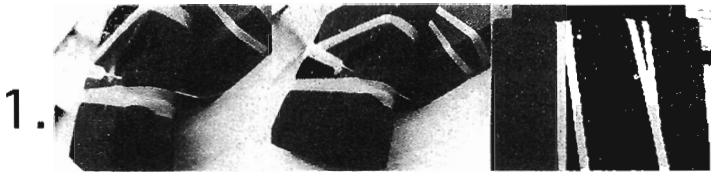
図 8. 生後 5 日のベビーマウスの保定と心エコー測定

生後 5 日のベビーマウスの心エコーを測定する必要がでたため、マウスの保定法を考案した。

材料: やや固めのウレタン素材 (厚さ 1cm)、21G 注射針、タングステンワイヤー (電極)、やや広めのゴムバンド、縦長にカットしたサランラップ、両面テープ。

5 日目マウスベビーのエコー像をとるための準備

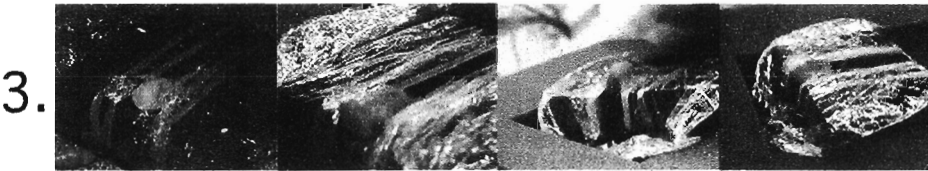
Windows MOdisk, ビデオテープ準備。



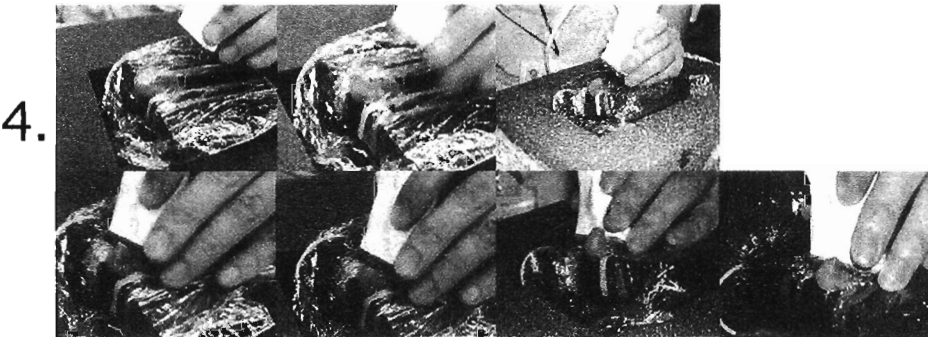
21G 注射針を利用してタングステンワイヤーをウレタン材に通す。
ゴムバンドを準備する



縦長にカットしたサランラップを 2 つ用意して、両面テープをはる。

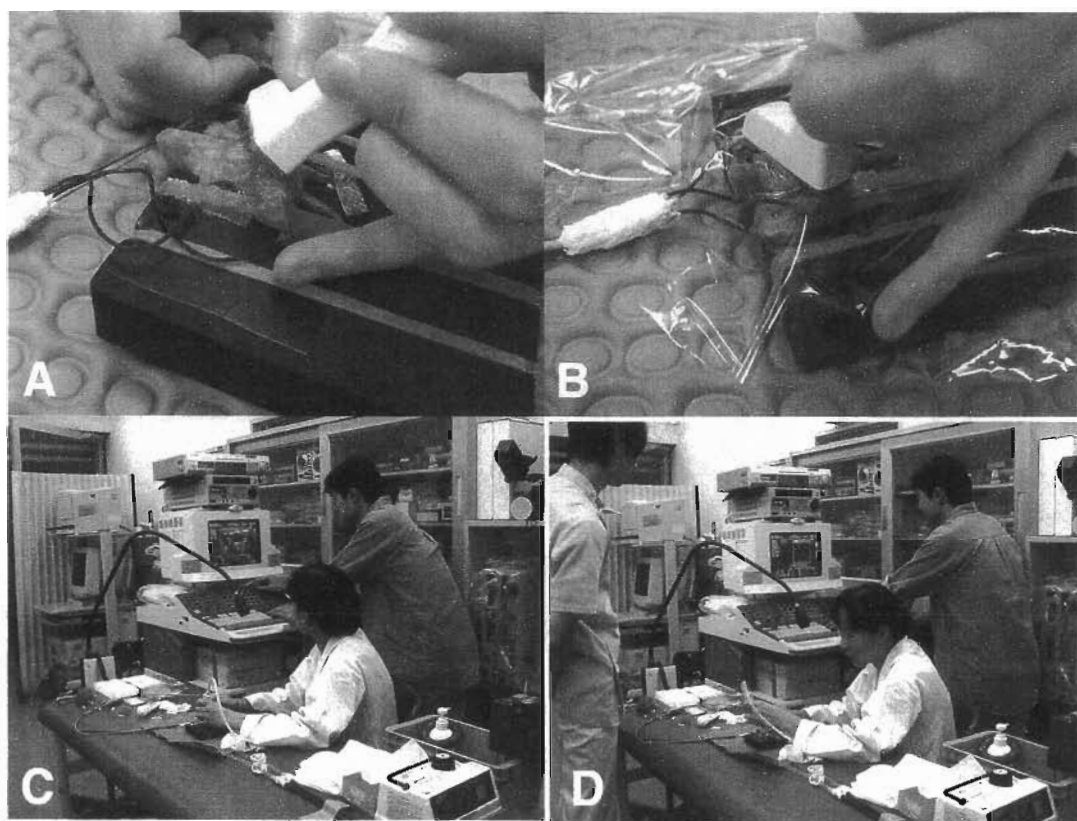


マウスをタングステンワイヤーとゴムバンドで、保定台に固定し、電極をセットする。その後、両面テープ付きのサランラップで手足の電極を保護する。



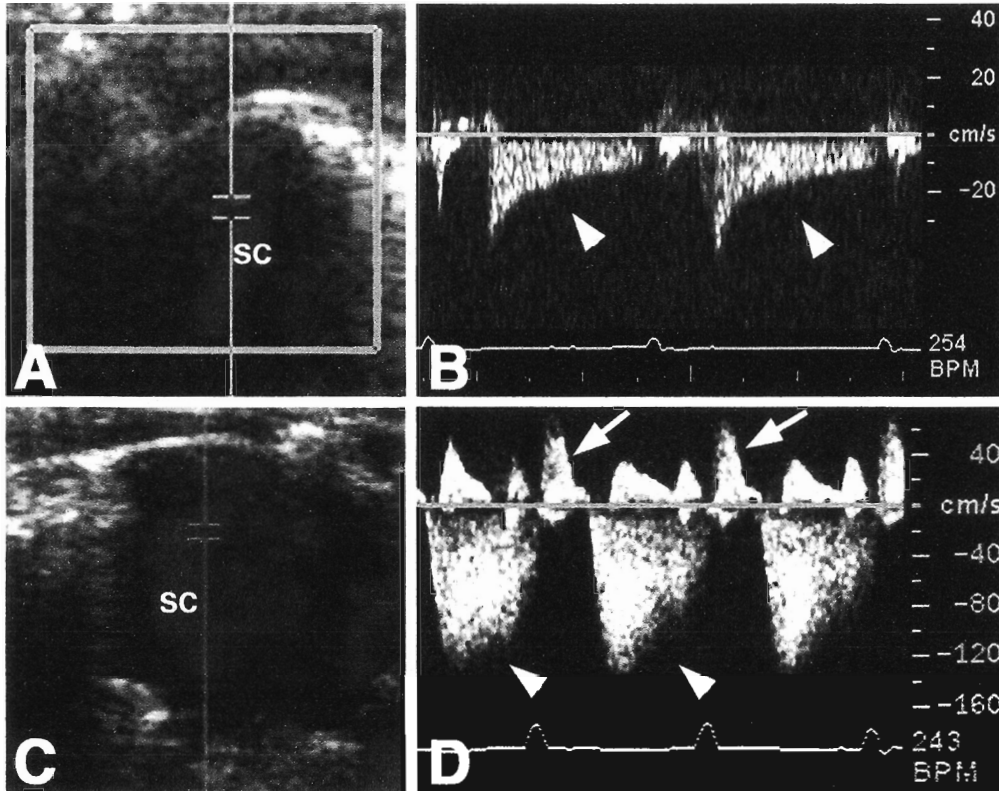
あらかじめ温めたゼリーをつけて計測開始。

図 9 . 生後 5 日 baby マウスの保定と実際の心エコー測定風景



A は心エコー測定時に、サランラップで電極保護をおこなっていない。このため心電図が測定不能になった。B は心エコー測定時に、サランラップで電極保護をおこなった。電極をゼリーから保護すると、心エコーに必要な最低限の心電図を得ることができた。C, D はプローブをもつ術者と、エコー機を操作する技術者。

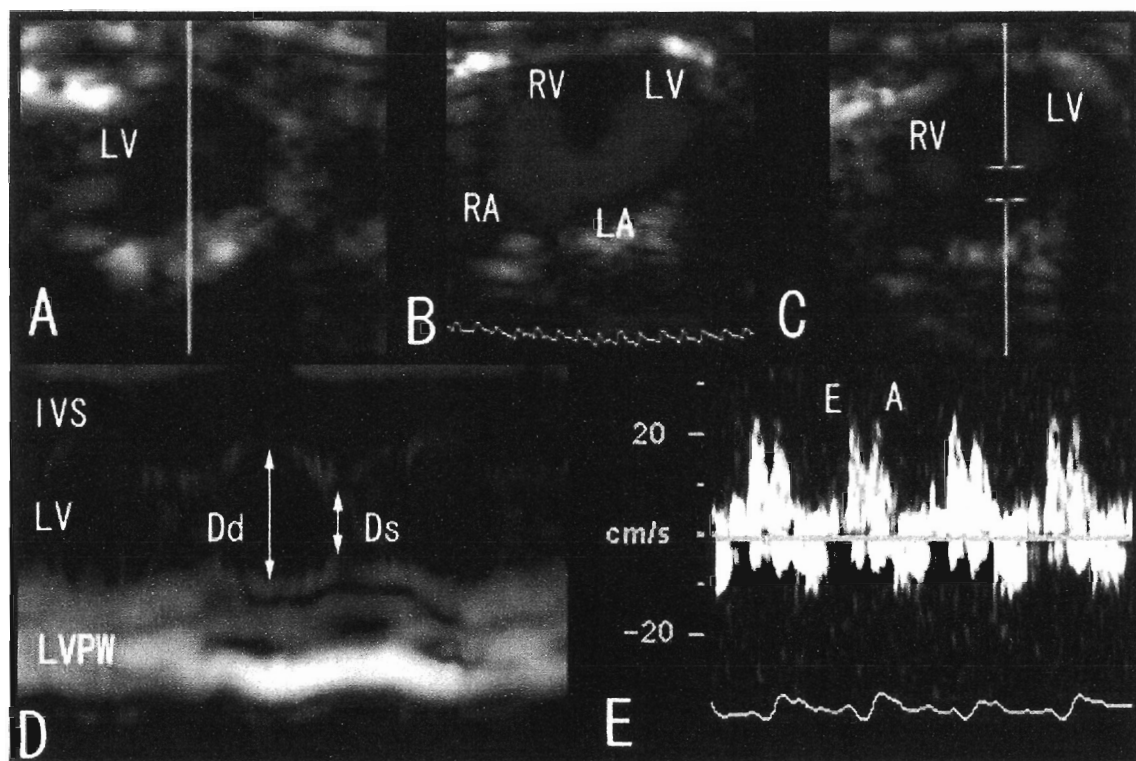
図 10. 成熟マウスの冠動脈エコー像



正常とメルトリン β ノックアウトマウスの冠動脈ドプラーエコー像。

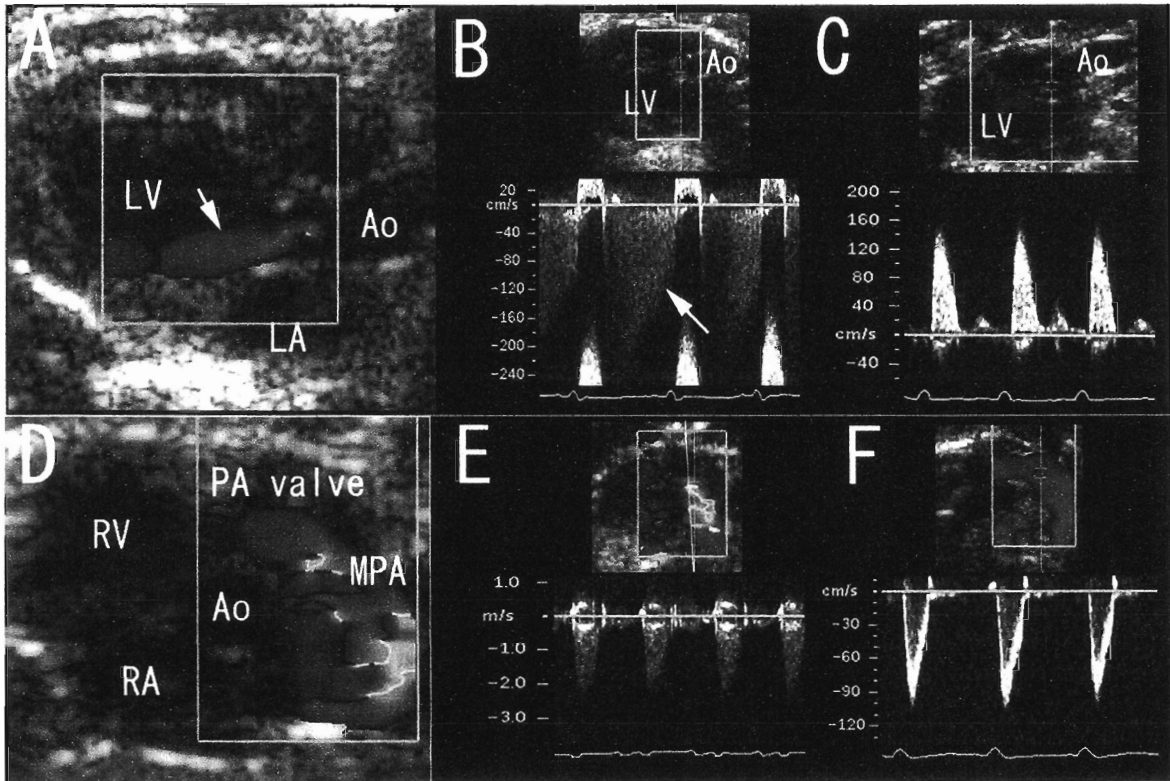
(A) 正常マウスのカラードプラー像。中隔枝(SC)の血流シグナルが赤色で描出されている。中央にパルスドプラーのサンプルポイントを示す。(B) 正常中隔枝血流のパルスドプラー像。拡張期相の下向き順行性血流を認める(矢頭)。最高血流速度 40cm/sec。(C) メルトリン β ノックアウトマウスの中隔枝カラードプラー像。中隔枝(赤色)は正常と比べ拡張している。中央にパルスドプラーのサンプルポイントを示す。(D) メルトリン β ノックアウトマウスの中隔枝パルスドプラー像。拡張期相の下向き順行性血流(矢頭)と収縮期相に逆流する異常血流を認める(矢印)。順行性血流の最高血流速度は 160cm/sec に加速している。

図 11. 生後 5 日のベビーマウスの心エコー像



(A) 左室短軸断層像。中央の線は M モードのサンプルラインを示す。(B) 四腔断層カラードプラー像。左室 (LV)、右室 (RV) 流入血 (赤色) が同時に描出されている。(C) 左短軸カラードプラー像。左室流入血、右室流入血を赤色で描出している。中央のサンプルポイントで左室流入パルスドップラーを実施した。(D) 左室 M モード像。矢印は左室拡張末期径 (Dd) と左室収縮末期径 (Ds) を示す。E.左室流入パルスドップラー像。急速流入血流 (E) と心房収縮血流 (A) の二峰性の波からなる。 IVS,心室中隔 ; LA,左心房 ; LVPW,左室後壁 ; RA, 右心房.

図 1 2. *hesr2* ノックアウト成獣マウスの心エコー像



A, B, D, E は *hesr2* ノックアウトホモ成獣マウス。C, F はヘテロ成獣マウス。
 (A) 左室長軸カラードップラー像。大動脈弁逆流血流が青色で描出される (矢印)。(B) 左室流出路パルスドップラー像。収縮期の上向き順行性血流と拡張期の下向き逆流性血流 (矢印) を認める。(C) 正常左室流出路パルスドップラー像。拡張期の逆流性血流は認められない。(D) 大動脈基部短軸カラードップラー像。肺動脈血流が弁通過直後からモザイク状に加速している。(E) 肺動脈弁部の連続波ドップラー像。最高流速 2m/sec の加速した肺動脈血流を認める。F.正常肺動脈パルスドップラー像。最高肺動脈血流速は 90cm/sec である。
 Ao, 大動脈; LA, 左房; LV, 左室; MPA, 主肺動脈; PA valve, 肺動脈弁;
 RA, 右房; RV, 右室