

# 心筋梗塞モデルラットの作製方法について

三重大学大学院医学系研究科基礎医学系講座法医学科学分野

中川 泰久

[yasnak@doc.medic.mie-u.ac.jp](mailto:yasnak@doc.medic.mie-u.ac.jp)

## 1. はじめに

心疾患は日本人の死因第二位であり、実験動物においても心疾患モデルのニーズは少なくない。しかしながら、モデル動物の入手にあたり、市販の疾患モデルは価格が高価で多頭購入は現実的でない。一方、自家製の外科的処置によるモデル作製は比較的安価で作製方法も多く紹介されているが、詳細にマニュアル化されていない部分も多く、技術確立に時間を要する場合が多い。そこで外科的処置による心筋梗塞モデルラットの作製方法について紹介する。

## 2. 器具

気管挿管具（図1）、開胸手術具（図2）、LEDヘッドライト、吸引器、小動物用麻酔器（Model 400；バイオリサーチセンター）、小動物用人工呼吸器（SAR-1000；バイオリサーチセンター）、動物用保温パッド、イソフルラン、除毛剤、ポピドンヨード、消毒用アルコール、綿棒。

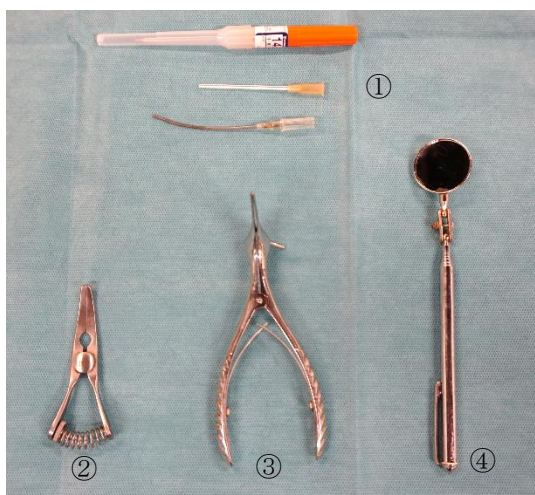


図1 気管挿管具

- ①14G サーフロ, ②ブルドック鉗子反型 7cm  
③鼻鏡小(ハルトマン式), ④歯鏡



図2 開胸手術具

- ①鼻鏡小(和辻式), ②尖刃メス, ③眼科剪刀反刃, ④持針器,  
⑤モスキート鉗子反×2, ⑥モスキート鉗子直×2, ⑦9mm 針(6-0  
縫合糸付き), ⑧3-0 縫合糸,

## 3. 手術手順

### 3.1. 麻酔導入

イソフルランを脱脂綿にしみ込ませて気化充満させた密閉容器にラット（8週齢 wistar 系雄；体重約240g）を入れ、麻酔導入を行う。イソフルランは呼吸抑制が強く、過麻酔で死亡するため、導入時間はラットの体動が停止し、呼吸回数および胸部の動きが減弱する程度とする。なお麻酔は比較的濃度で、導入時間を2-3分になるよう調整すると覚醒までの時間を延長させることができる。導入後体温が低下するのを防ぐため、気管挿管が終了したら速やかに保温パッドに装着する。

### 3.2. 気管挿管

仰臥位で前歯を固定し、頭部を後屈することで喉頭内を奥まで透視し易くなる（図3）。舌根部付近をブルドック鉗子で挟み、舌を引き出して口腔外側に排除し、鼻鏡小（ハルトマン式）で開口する。

次に、あらかじめラットの体格（口腔から左右主気管支分岐部手前の長さ）に合わせた長さで、先端を斜めにカットした14Gのサーフロを、LEDヘッドライトで喉頭内を照らしながら声門の開閉のタイミングに合わせて挿入する。挿入後、歯鏡をサーフロの接続口に近づけて呼気を確認する（図4）。気管挿管が成功していれば歯鏡が呼気に合わせて曇る。曇らない場合は食道挿管の疑いが強いので、抜去してやり直す。一連の動作を1分以内に完了しないと麻酔から覚醒してしまうので注意する。



図3 気管挿管時の体位

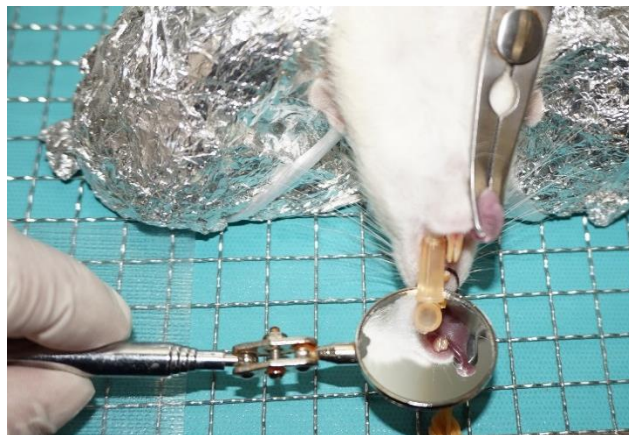


図4 挿管完了時の呼気の確認

### 3.3. 手術準備

気管挿管後、サーフロの接続口を麻酔器と連結した人工呼吸器に接続する。本法での麻酔濃度（イソフルラン）は100%酸素に対して1.9%とした。呼吸器の設定は、1回換気量2.3ml、呼吸回数50回/minとした。手術台を兼ねた動物用保温パッドにラットの四肢をテープで固定し、体位を右半側臥位の角度に調整する。胸部正中を中心として、縦径3cm、横径2cmの範囲を除毛剤で除毛後、消毒用アルコールで丁寧に拭き取り、ポピドンヨードで除毛面の皮膚を消毒する。

### 3.4. 開胸

皮膚は左第3-4肋骨の高さを中心に、左鎖骨中線下から胸骨左縁に1.0-1.5cm尖刃メスで切開する（図5）。綿棒で創部を10秒ほど圧迫止血した後、左にモスキート鉗子反、右にモスキート鉗子直を持ち、皮膚を左で上方に牽引し、開創周囲の皮膚を0.5cmほど右で鈍的に筋肉から剥離する（図6）。



図5 皮膚切開位置



図6 皮膚の鈍的剥離

次に、左で大胸筋を大きくつかみながら上方に牽引し、右で筋肉を鈍的に剥離すると肋骨および肋間筋が露出する（図7）。肋骨下端には動静脈および神経が走行しており、損傷すると出血するため、肋間開口位置は第4肋骨上端の胸骨左縁付近とし、右を眼科剪刀に持ち替え、肋間筋を浅く貫く。その後、右をモスキート鉗子反に持ち替え、器具を胸腔内臓器に接触させないように開口部に挿入し、胸



郭全体を上方に持ち上げ肋間を広げて保持することで胸腔内の作業スペースを確保する（図8）。  
なお、肺は血流量が多く、損傷すると大出血につながるため慎重に作業を行う。



図7 肋骨と肋間筋の露出



図8 肋間の開口部を広げる

左を鼻鏡小（和辻式）に持ち替え、肋間開口部に挿入し開くと、心膜内に拍動する心臓を透見出来る（図9）。右に持った綿棒で、心膜を上下になぞると心膜が破れて心臓が露出する。鼻鏡を保持したまま、左中指でラット背面の心臓位置を上方に持ち上げると奥にあった心臓が術野にあがってくる。吸引器で心尖部を（陰圧；約-50-100mmHg）吸引し、胸腔内から脱出させる<sup>1)</sup>（図10）。



図9 鼻鏡による開胸

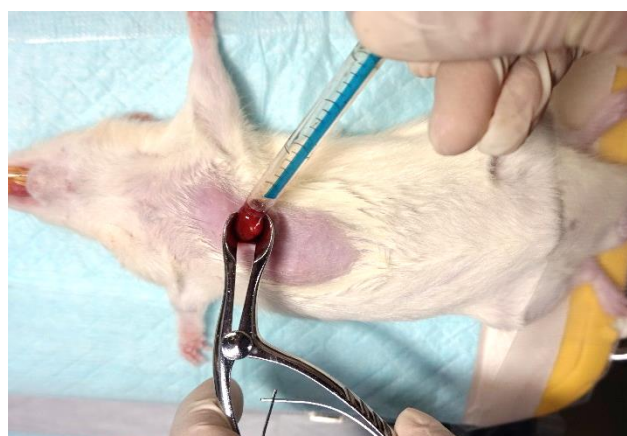


図10 吸引器による心吸引脱出

鼻鏡を開胸部から取り外し、右の吸引器を心吸引したまま左に持ち替え、心尖をラットの左斜め下に向け、左心耳が見えるように角度をつける。右はモスキート鉗子直で挟んだ9mm針（6-0縫合糸付き）を持ち、左冠状動脈前下行枝に糸を掛ける。位置は肺動脈と左心耳右縁の間を目安とし、針は心筋に対しておおむね垂直になるように挿入し、糸は深く幅広く掛ける。また、心臓拍動のタイミングにあわせて入脱針を手早く行うことで出血量を抑えることができる。なお、結紮部位の高さは目印とする左心耳より、高すぎると術中術後の死亡率が上昇し、低すぎると心筋梗塞範囲が小さくなるため、目的とする心筋梗塞の大きさに応じて一定の位置に掛けられるようにする。糸掛けが終了後、心吸引を解除し、心臓を胸腔へ戻し糸結びを行う。拍動により、結びが解けるのを防止するために5重結紮し、最後は逆になるように結ぶ。胸腔内に流出した血液は組織癒着の原因となるため綿棒で丁寧に吸い取る。ここまでの全出血量はおおむね綿棒の先端を軽く湿らせる程度となる。

### 3.5. 閉胸

閉胸は胸筋を3針ほど3-0縫合糸で縫合するが、1針目の縫合時に筋肉が完全に密着する前に吸引器で開胸部を吸引し、自発呼吸が可能となるように胸腔陰圧を形成してから閉胸する。最後に縫合時間短縮のため皮膚は4針ほど連続かがり縫合して終了する。全手術時間は平均9分ほどである。

### 3.6. 術後

縫合終了後、呼吸器を麻酔+酸素から酸素のみに切り替え、四肢の固定を解除し、数分後にラットが覚醒するのを確認してから気管挿管チューブを抜去し飼育ケージに入れる。覚醒前に挿管抜去すると自発呼吸が開始されていない可能性があるため死亡率が上昇する。その後、飼育ケージの中で通常飼育を行う。7日後には皮膚の創は癒化する程度に治癒する。死亡率は術中に次いで術後数時間以内が最も高いが、その後は低下する。

なお、本実験は三重大学動物実験審査委員会で審査・承認されたものである（承認番号 23-22）。

## 4. 結果と評価

術後7日間飼育し、生存した43例の心筋梗塞範囲の評価を行うために結紮部位より末梢の心横断面組織のアザン染色を行った（図11）。併せて未結紮心を正常対象として提示する（図12）。心筋梗塞から生じる線維化巣はアニリン青で青染される。結紮術施行例は左室前壁がアニリン青で陽性を呈したのに対し、正常心では陰性を呈した。

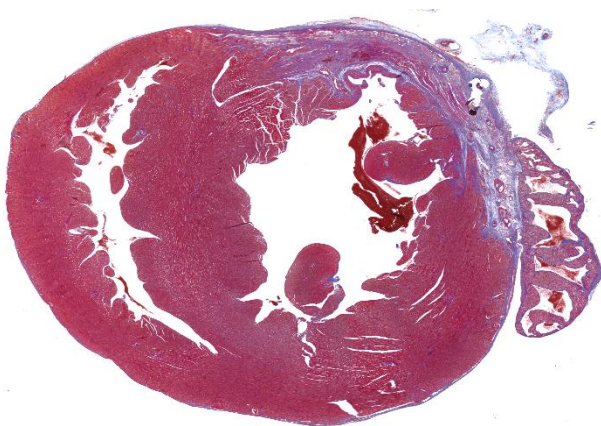


図11 結紮術後7日目の心横断面

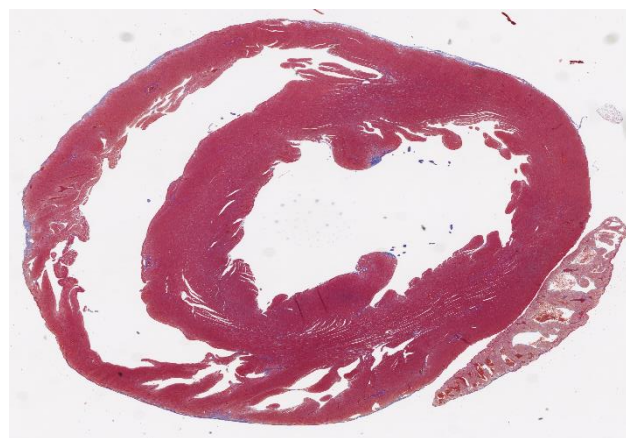


図12 正常心横断面

染色像をデジタル解析（BZ-X Analyzer；KEYENCE）して横断面積に対する青染部位の割合を算出し、梗塞率とした。43例の梗塞率は0.5–31.7%となり、梗塞率10%以上を有効としたところ33例、76.7%が有効であり梗塞率 $17.3 \pm 0.75\%$ （平均±標準誤差）となった。

## 5. 考察・まとめ

心疾患研究における心筋梗塞モデルの利用用途は幅広い。外科的処置による心筋梗塞は安価で大量にモデルを作製できる反面、開胸を伴うために人工呼吸器装着が必要となり操作の煩雑化やテクニックを必要とする。また、梗塞作製を記した文献は多く存在するが、詳細な手順に乏しい場合が多く、実際に行ってみると手技に難渋する場面が多く生じる。

今回、43例中33例で有効な心筋梗塞巣を形成したが、結紮位置および深さを一定化出来れば、手術成績の向上や安定的な心筋梗塞巣が得られる可能性がある。しかしながら、個体に応じて心臓および左心耳の大きさ、形状が細かく異なるために、その都度的確な結紮位置を判断しなければならない。また、手術中の死亡率は心臓を胸腔外に露出してから格納するまでの時間と出血量に依存するため、短時間で素早く正確な処置が要求される。実験目的に応じた梗塞範囲作製のためには、冠状動脈の走行および深さを熟知したうえで、今後さらに手技の改良や詳細なマニュアル化が必要となる。

## 参考文献

- 1) Imazuru T et. Synchrotron Radiation Coronary Angiography in Infarcted Rat Heart Utilizing Simple Ligation Technique. J Jpn Coll Angiol, 2006, 46: 49-53
- 2) 中上拓男 他. モデル動物の作製と維持. 2004, 246-52