

ラットを用いた生体軟組織の 機械的特性に関する研究 ～実験準備・基礎実験編～

指導 榎 徹雄 教授 小林 邦夫 教授
山崎 大生 准教授 堺 英男 講師
0511087 平林 良

1. 緒言

社団法人 日本損害保険協会の調査⁽¹⁾によると、自動車衝突事故において、死亡者数を受傷部位別にみると、圧倒的に頭顔部が多いが、受傷部位別の被害者総数に占める死亡者の割合(死亡率)を見ると、腹部受傷者中の死亡率が3.8%と全部位を通じて最も高い。また腹部受傷者の平均人身損失額は全部位平均の約2.7倍高い。これらのデータから腹部傷害の軽減は急務であると言える。しかし、腹部の傷害発生メカニズムは未だに明らかにされていない⁽²⁾。この要因として、頭部や胸部は頭蓋骨や肋骨などの骨格構造を有しているのに対し、腹部にはほとんど骨格構造がないため、内臓の傷害を外見から確認することが難しいこと、さらに、内臓臓器の軟組織に関する機械的特性の解明が遅れていることなどが挙げられる。そのため、軟組織の機械的特性を明らかにすべきだが、実際に生きたヒトを使用する実験はできない。さらに屍体を使用する実験ならば、資格者、設備、技術力、費用の観点から本学での実験は不可能である。そこで屍体のデータを用い、FEMでの解析方法を提示する。

ヒトの屍体の機械的特性のデータを用い、FEMで解析を行いたい、現在、ヒトの屍体は死後数週間から数日経過しているデータしか存在せず、更に屍体の保存方法も様々である。そこで、前段階の1つとして動物実験を行う。軟組織を引張・圧縮試験にかけ、軟組織のヤング率・ポアソン比を調べる。それらの死後経過時間毎や保存方法別にまとめ、ヒトの屍体の機械的特性と比較スケールリングを行う。このようにして得た機械的特性をFEMでの解析に組み込んでいく。

そこで今年度は、動物実験をするための実験準備や基礎実験として麻酔・安楽死方法の制定、解剖技能の習得及び生体実験用試験機製作を行った。

2. 理念

動物実験を行う際には、動物実験の基準についての理念である以下の「3R」と呼ばれるものを遵守することが求められる。本研究ではこの理念に基づいて、実験動物の選択・解剖・実験を行うこととする。

- ① Replacement : 重複実験の排除
- ② Reduction : 使用動物数の削減
- ③ Refinement : 苦痛軽減, 安楽死措置

本研究では実験動物として、ラットを用いる。その理

由に、ヒトと同じ哺乳類の中で入手が容易な点と、ラットによるスケール化が行われている研究も数多く報告されている点が挙げられる。しかし、本学においてラットによる解剖は現在行われておらず、ウシガエルを用いた解剖が行われている。

これらの事から、本年度は解剖のスキルアップとしてウシガエルを解剖対象とした。また、本学の倫理委員会が定めた倫理規定では、生体の動物実験は禁止している。そして、実験動物に対して安楽死が義務付けられているため、ラットに関しては、麻酔・安楽死方法を調べた。

3. 研究方法

3.1 ラット実験

3.1.1 ラット麻酔・安楽死方法

注射筒にペントバルビタールを入れる。この際注射針の穴は、注射筒の目盛りと同じ側にする。ラット頸部の皮膚を左手親指と人差し指でしっかりとつまみ、頸部を固定する。続いてラットを持ち上げて仰向けにし、薬指と小指で尾をはさむ。腹部全体をアルコール綿で消毒した後注射針の穴を上にして皮膚に刺す。ここで針を上にする理由は針先が下になって、針が刺しやすく、深さも調整しやすくするためである。刺す場所は腹部中央の若干下で上部には肝臓、左右の皮下には血管があるのでここに刺すと出血する。針を腹筋に通し腹腔内に差し入れ、ペントバルビタールを注入する。これにより安楽死が完了し解剖に移ることが可能となる。

3.1.2 ラット解剖方法

ラットを背位とし、腹部正中線に沿って、上は下顎部より、下は恥骨のあたりまで皮膚を切開する。両手で皮膚を左右に開き、その皮下を見る。その際、皮下出血の有無を調べることが可能となる。正中線に沿い、筋肉層から腹膜までを一緒にして切り進め、各種臓器の損傷、出血の有無を調べる。ハサミを使い、全肋骨を胸骨の両側に沿って切断する。胸骨を上方に反転して、心臓、肺臓を確認する(図1)。

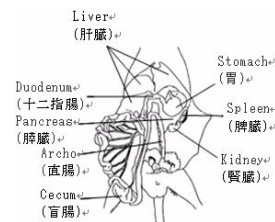


図1 ラットの解剖図

3.2 ウシガエル実験

3.2.1 ウシガエル安楽死方法

ウシガエルをうつ伏せにして首から下に向け金属棒を差し込み、脊髄を破壊する(図2)。さらに上向きに金属棒を差し込んで脳を破壊する。これにより安楽死が完了する。しかし、ウシガエルの心臓は洞房結節と呼ばれるペースメーカーによりまだ動いているため、主要な血管を傷つけると大量出血する恐れがある。

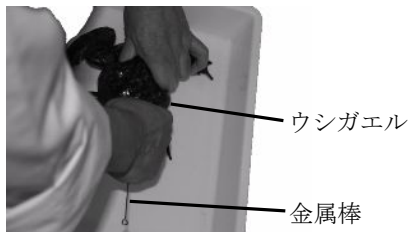


図2 ウシガエル安楽死方法

3.2.2 ウシガエル解剖方法

ウシガエルを仰向けにして四肢をタコ糸等で解剖台に固定し腹部を切開した。肋骨を骨切りバサミで切り開き、糸をかけ固定すると、軟組織が露出する(図3)。その状態になれば、必要な軟組織を摘出し必要な箇所を切除が可能となる。しかし、軟組織は複数の組織で構成されているため⁽³⁾同一の軟組織の同一の箇所を切除する必要がある。さらに個体差を考慮し、軟組織切除の際には組織を潰さずに切ることが求められる。



図3 ウシガエル解剖図

3.3 試験機性能試験

3.3.1 試験方法

従来の機械材料に用いられる試験機の能力では、生体の試験を行うような弱い荷重での試験はできないため、生体用に引張・圧縮試験機を試作した。

製作した引張試験機(図4)の性能を調べるため、試料としてバネを用い、試験機に取り付け荷重をかけた。その時のバネの変位量と荷重からバネ定数を求め、実際のバネ定数と比較し誤差を算出した。また試料としてバネ定数の違う2種類のバネを用意し、変位量の計測には高速度カメラとレーザ変位計を用いた。製作した試験機にターゲットマークを張りつけ、荷重を負荷する前後を高速度カメラで撮影しその映像を解析することでバネの変位量を求めた。さらにレーザ変位計を用いた試験を行った。

また、圧縮試験機(図5)の性能を調べるため、バネを試験機に取り付け同様の性能試験を行った。試料として

バネ定数の異なる2種類のバネを用意し、変位量の計測機器にはダイヤルゲージを用いた。

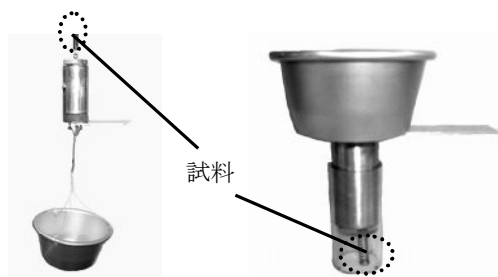


図4 引張試験機

図5 圧縮試験機

3.3.2 試験結果

引張試験結果を(表1)に示す。試験1では誤差が5.2%、19.7%、試験2では1.6%、11.8%となった。試験1に比べ試験2の方が目標値に近いことから、計測機器として高速度カメラよりレーザ変位計を用いた方が有効であることがわかった。

また、圧縮試験結果を(表2)に示す。試験1では誤差が13.1%、試験2では10.7%となった。

表1 引張試験機性能試験結果

	目標値 (kgf/mm)	高速度カメラ計測 による誤差(%)	レーザ変位計計測 による誤差(%)
試験1	0.005	5.2	1.6
試験2	0.003	19.7	11.8

表2 圧縮試験機性能試験結果

	目標値 (kgf/mm)	ダイヤルゲージ計測 による誤差(%)
試験1	0.122	13.1
試験2	0.066	10.7

4. 結言

今年度は実験準備として麻酔・安楽死方法の制定、解剖技能の習得、試験機の製作を行った。また製作した試験機に対し(表1, 2)、さらに精度を上げられるよう検討中である。今後は試験を繰り返し行い、随時改良していく。これにより軟組織の機械的特性を計測する。そして試験により得られたデータをFEMでの解析に組み込み、腹部傷害の軽減に役立てる目的とする。

参考文献

- (1) 社団法人 日本損害保険協会：自動車保険データにみる、交通事故の実態、2006年4月2007年3月
- (2) 鮭川佳弘, 小野古志郎, 河野元嗣：内臓傷害についての分析, Page.23(2005)
- (3) 広川俊二, 井上広太, 佐崎祥子：生体軟組織の構成特性の解明 Vol.2004 No.Vol.5 Page.15-16 (2004)