

第5章

血管新生の生体内連続観察実験

5.1 実験目的

4.3 項において記述した長期動物実験用チャンバー型血管新生観察装置 (Type III) をヤギに埋め込み、組織工学材料 (PGA Scaffold) 中における血管や組織の新生状況を観察した。

5.2 実験方法

5.2.1 動物実験方法

3.3.2 項と同様な実験方法で、長期動物実験用チャンバー型血管新生観察装置 (Type III) を、3頭の成ヤギ (40-55kg、メス、ザーネン種) の皮下の肋骨上広背筋近傍に埋め込み (図 4-2-1)、縫合糸を用いて、4点で固定した。手術後は実

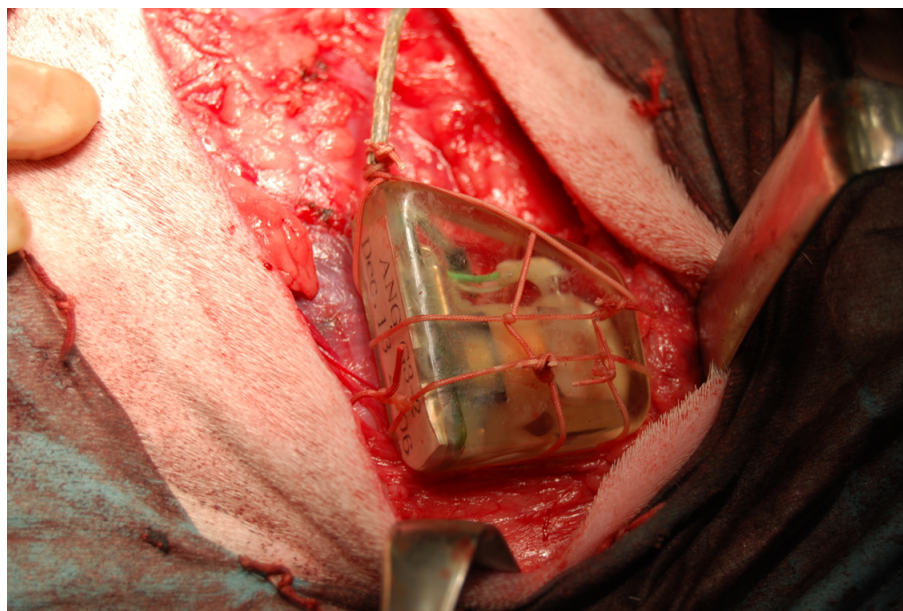


図 5-1 観察デバイスの埋込手術の様子

験終了まで飼育ケージにおいて清潔な状態で管理した。特に皮膚貫通ケーブル部位での感染に注意した。実験は画面上の Scaffold に血管・組織が新生するまで継続した（最長 354 日）。

5.2.2 画像取得方法

観察装置は体外に設置したモニター PC と USB インターフェースを用いて接続し、制御および撮影を行った。モニター PC は専用開発したプログラムによって観察装置を自動的に制御し、1 時間に 1 枚の間隔で静止画を撮影した。画像撮影設定は明るさ、ホワイトバランス、コントラストを固定して撮影した。撮影ごとにオートフォーカスを機能させ、画像中心の焦点が自動的に一致するようにプログラムで制御した。画像解像度は 1280×1024 [pixel] で、無圧縮のビットマップ形式で保存した。

5.2.3 組織評価方法

実験終了後には観察装置を摘出し、Scaffold に新生した血管および組織を組織学的に評価した。染色方法は基本染色である HE 染色と、結合組織の有無を見るためにマッソントリクローム染色を行った。

5.3 実験結果

実験開始から終了まで感染等はおきなかった（図 5-2）。埋込直後から観察装置

による観察を開始し、埋込後9週間目の実験終了まで記録を続けた。図5-3に実験開始から9週間の動物実験の結果を示す。図5-3Aは埋込直後の画像で、青く繊維状に写っているのがPGA Scaffoldである。画面上の黄色い部分は鏡筒が写り込んだものである。3週目(B)に左右から血管の新生が見られた。4週目(C)ではさらに血管や組織の新生が進んだ。また新生の先端では毛細血管が多く見られた。第5週(D)では、左右からの新生血管が画面中央部で結合していく様子が観察された。Scaffoldは画面中央にわずかに残っていた。新生が一段落した部位では毛細血管が減少し、選択的に太い血管だけが残る様子が観察された。また、太い血管から細い血管が分岐する様子が観察された。6週目(E)では、左右からの新生が完全に結合し、Scaffoldが加水分解され消失する様子が観察された。新生先端部に多く見られた毛細血管は減少し、100 μ m程度の太い血管が残る様子がみられた。6週目以降から9週目(F)までは血管網に目立った変化はなかったが、組織全体が画面中央部に移動する様子が見られた。



図5-2 観察実験終了時の埋込部位の様子

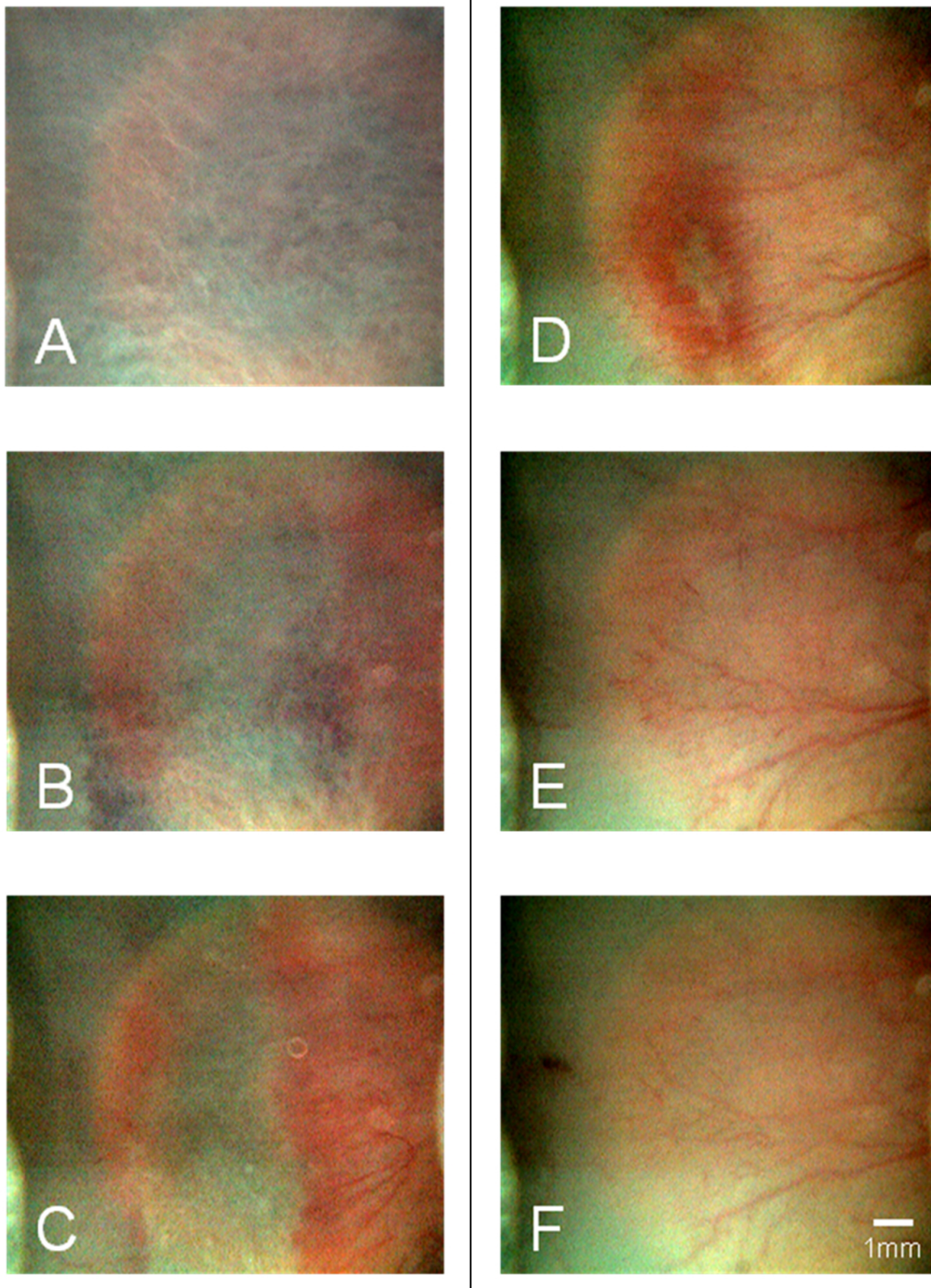


図 5-3 動物実験の結果 (A:0, B:3, C:4, D:5, E:6, F:9 [週])