

5.4 組織学的検討結果

観察実験終了後に麻酔下で観察装置を摘出した（図 5-4）。観察装置はカプセル化され、組織に覆われていた。摘出後、Scaffold に新生した組織を光学顕微鏡で観察した。図 5-5 と図 5-6 に HE 染色による組織像を、図 5-7 にマッソントリクローム染色による組織像を示す。図 5-5 では新生組織面に対して水平にスライスした。大血管から分岐する小血管の様子が観察された。また、図 5-5（上）の点線枠を拡大した図 5-5（下）では、血管中に赤血球が確認され、血管内皮細胞と思われる黒く染められた核が赤血球に沿うように見られた。図 5-6 に垂直にスライスした結果を示す。血管壁の厚い動脈と、それに随走する血管壁の薄い静脈が確認できた。図 5-7 で示すマッソントリクローム染色の結果では、青く染まっている繊維芽細胞の膠原線維の存在が確認された。また網目状の毛細血管が観察された。

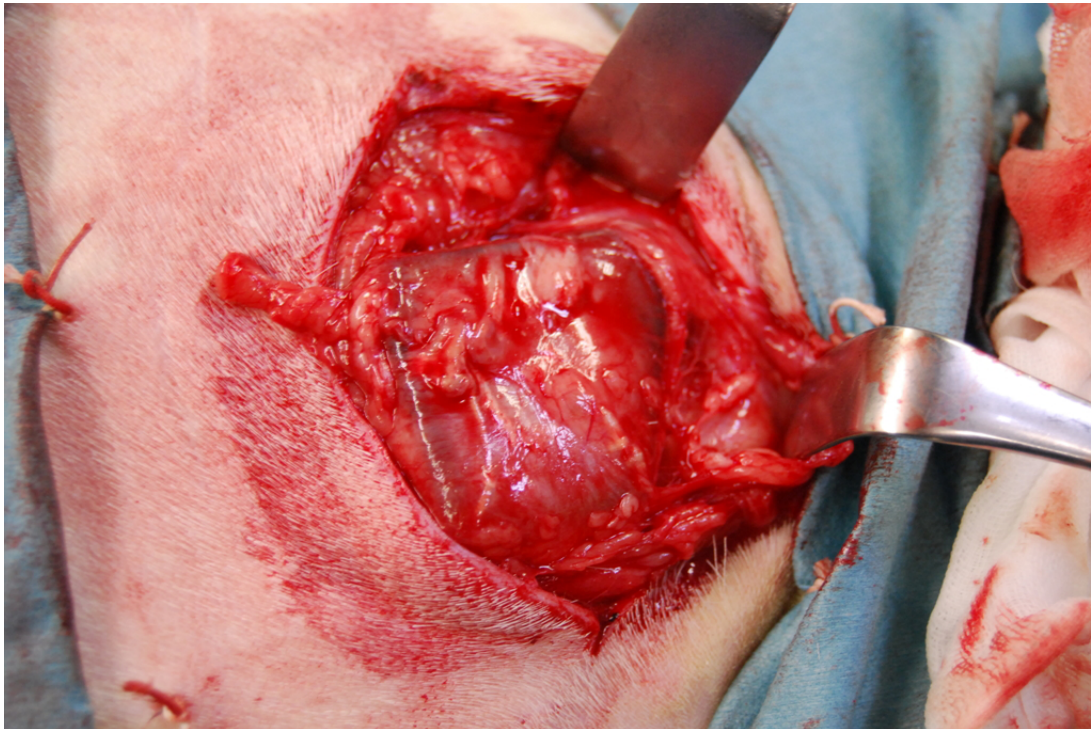


図 5-4 摘出時の様子

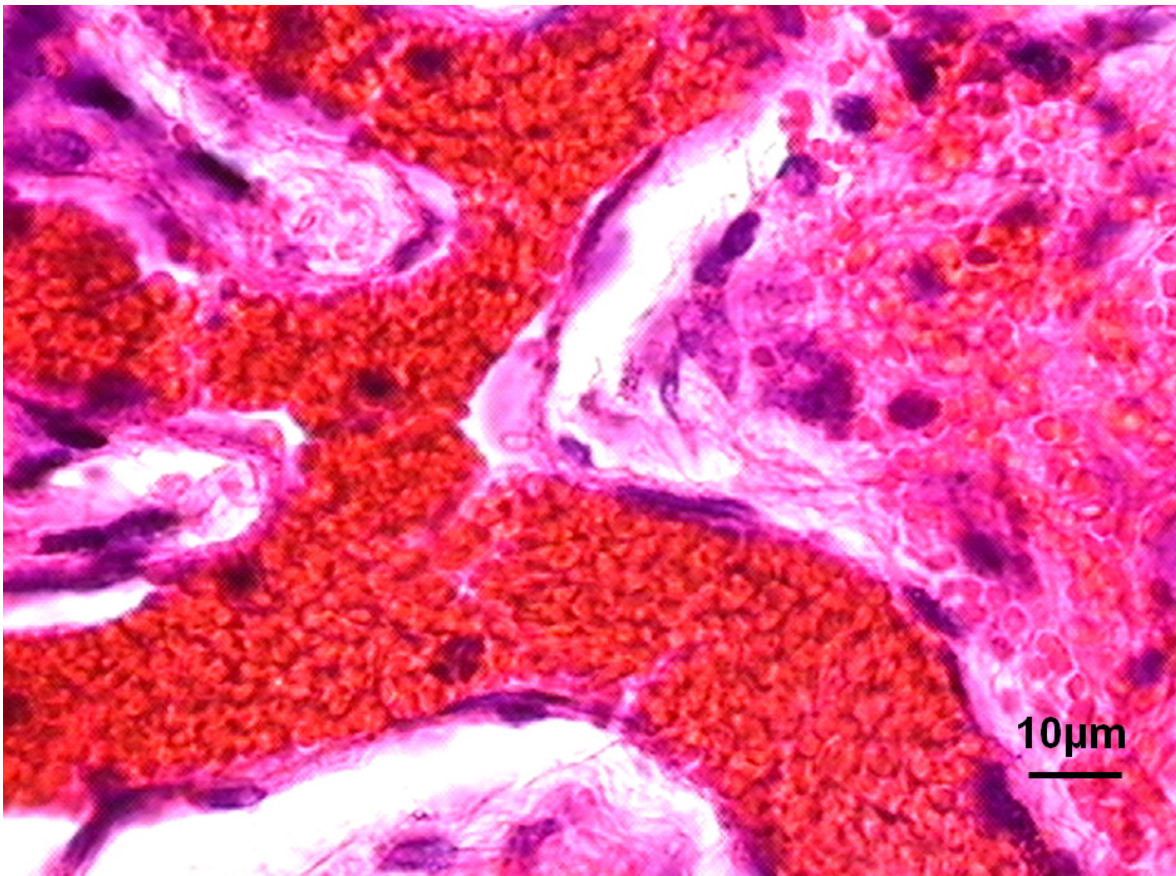
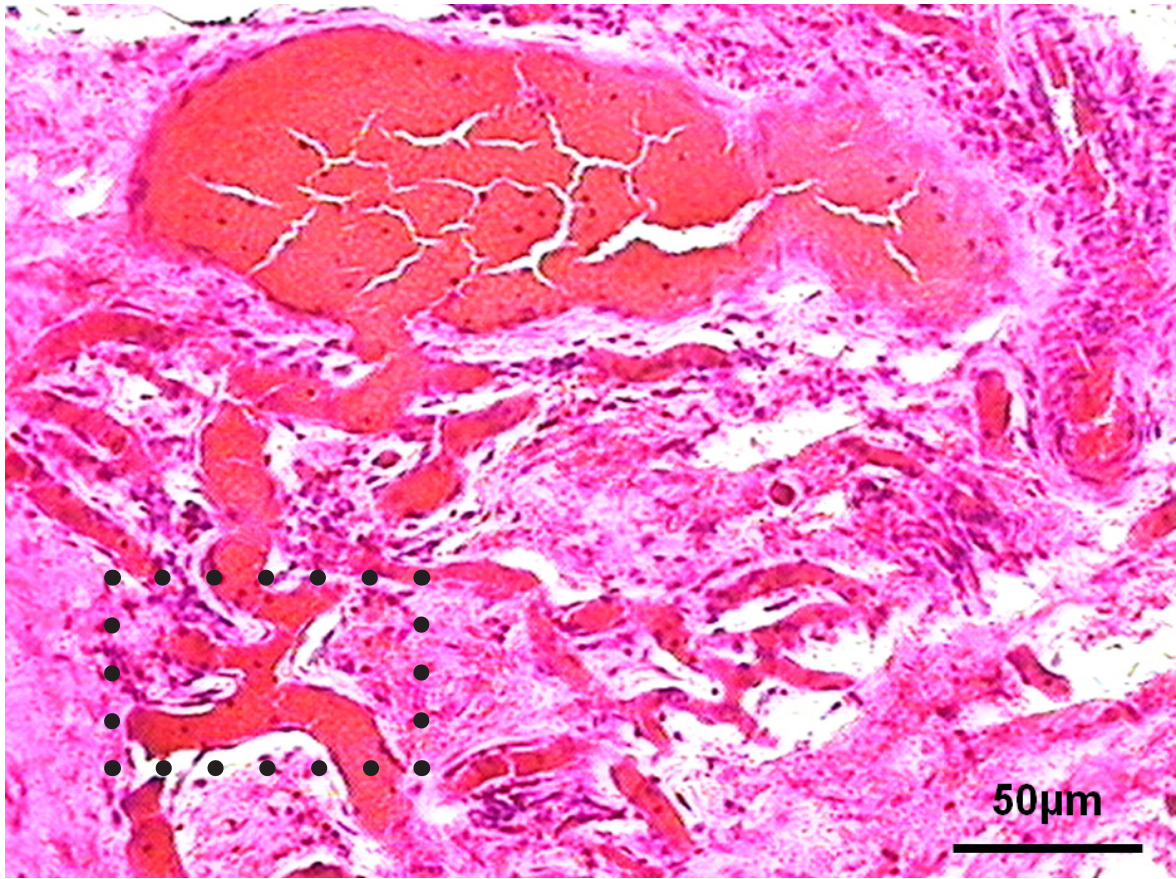


図 5-5 上図：大血管から分岐する血管（H.E. 染色 水平スライス）
下図：点線枠部拡大

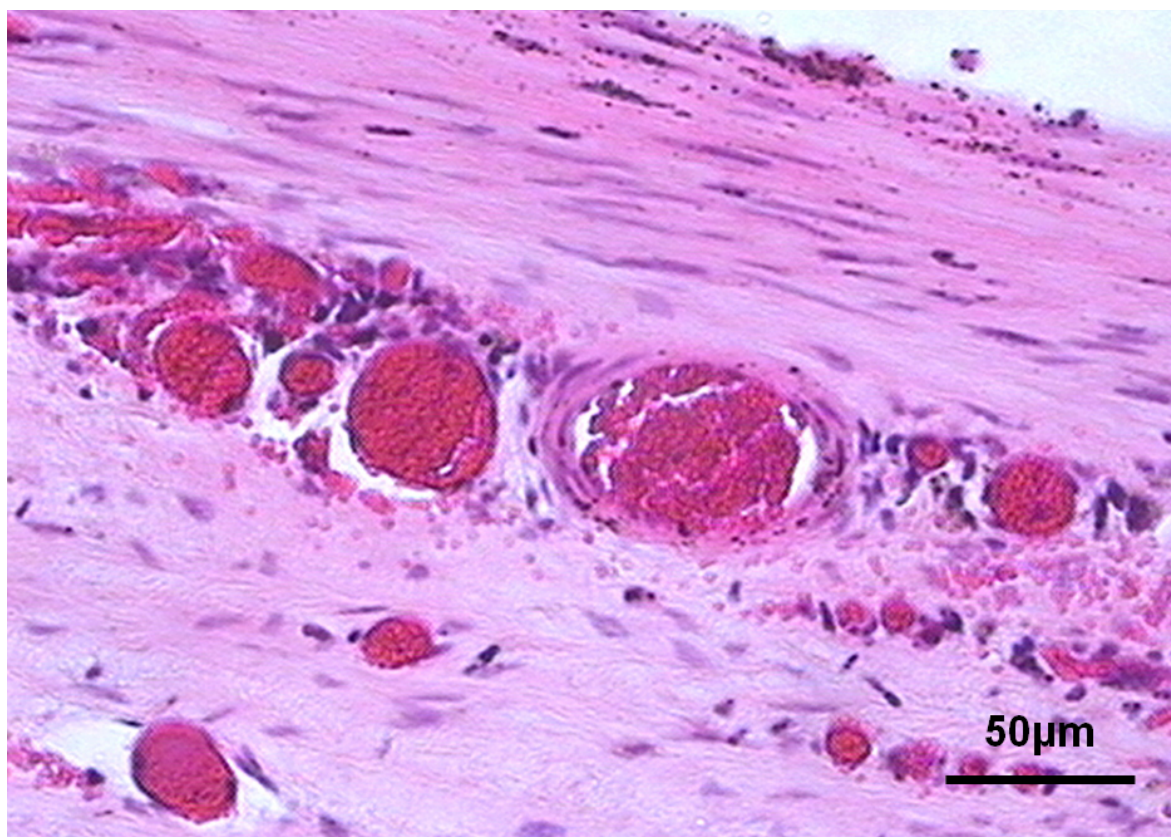


図 5-6 動脈と静脈 (H.E. 染色 垂直スライス)

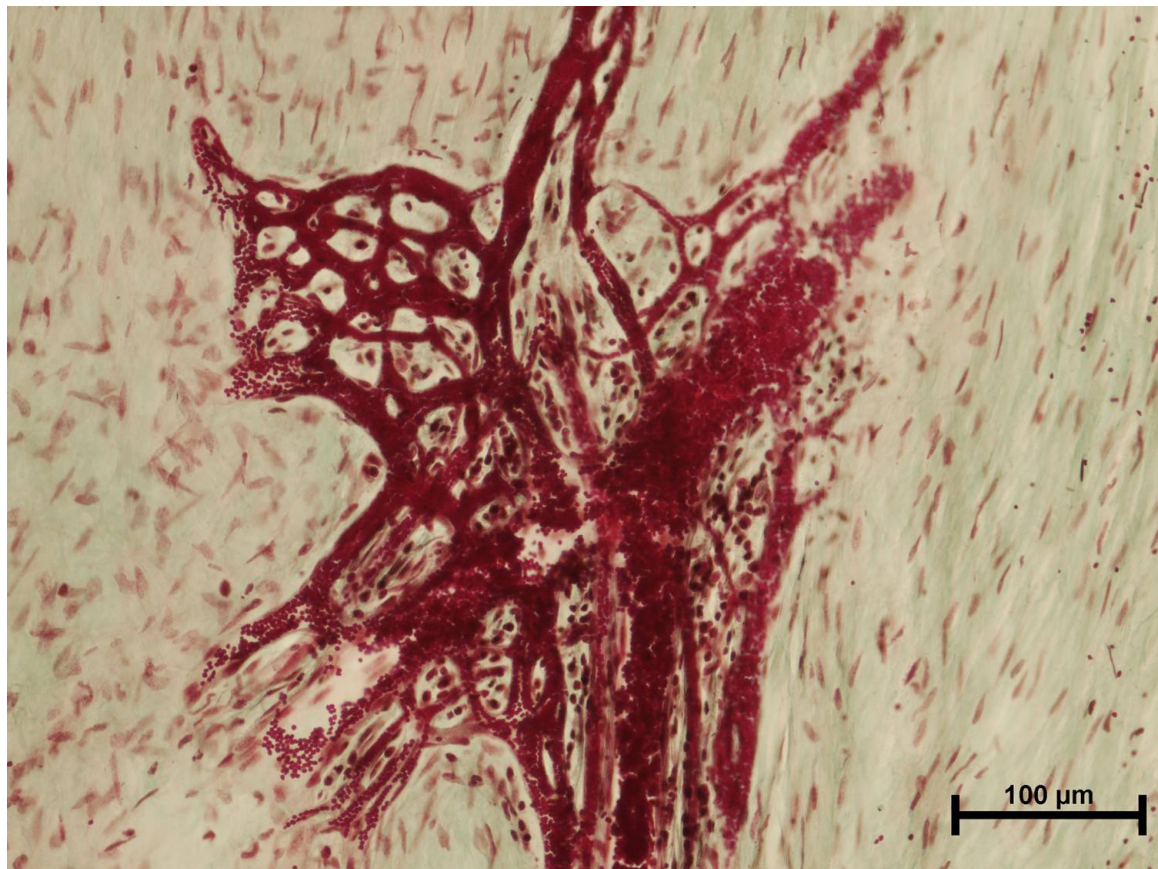
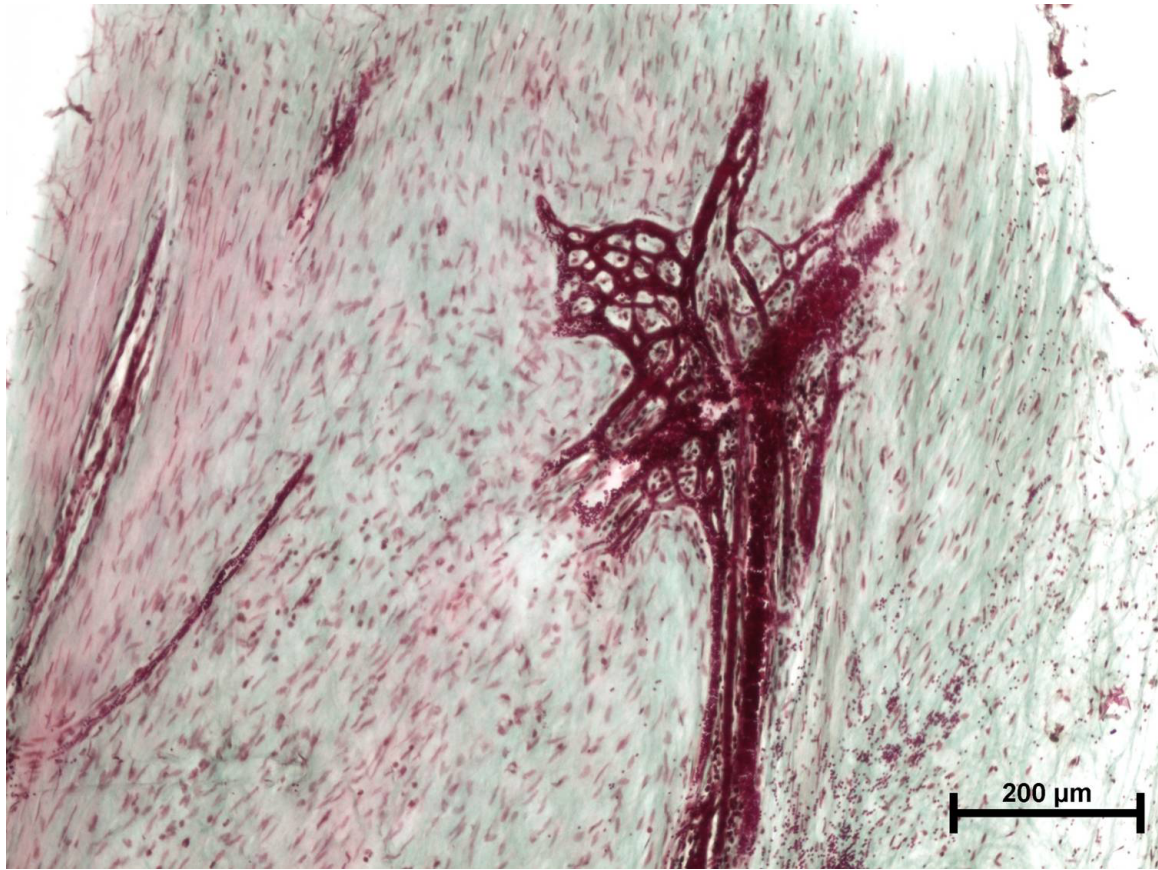


図 5-7 網目状の毛細血管 (マッソントリクローム染色)

5.5 考察

本研究で開発した血管新生観察装置の長所は、実験動物への制限を最小限に保つたまま長期連続に安定して観察できる事であり、麻酔や薬剤、厳しい拘束をすることなく観察することで、それらの影響を受けずに生体本来の状態を観察を続けることが可能であることである。

組織染色において、赤血球や血管・組織が観察でき、確かに Scaffold に血管および組織が新生したことが確かめられた。また、血管壁の厚さが異なる血管が観察されたことから動脈・静脈が、新生組織中に存在することがわかった。

長期観察結果では、新生の先端部は毛細血管が多くみられた。これは PGA を加水分解させるために活発に代謝を行うため、創傷治癒の過程と同等の結果と考えられる。血管・組織新生が終了した部位では、毛細血管は減少し、太い血管だけがのこった。このことも創傷治癒の成熟期に見られる毛細血管の減少と一致する結果だった。Scaffold が消失し、血管組織新生が終了した 6 週目以降 9 週目までは血管の走行に大きな変化は見られなかったが、全体に画面中央に移動する様子が見られた。これは新生した組織中に線維組織が増殖したことで抗張力が生じ、その結果新生組織が収縮したのではないかと考えられる。図 5-7 の結果からも新生組織中に線維組織があることが確かめられ、それが組織収縮を引き起こしたと考えられる。これらの事から、Scaffold に新生した組織は通常の生理反応によるものであると考えられる。

5.5.1 動物実験管理

観察装置の形状を埋込時に空隙の少ない形状に最適化し、外形形状を可能な限り縮小化することで、感染のリスクを低減させる対策を行った。その結果、実験終了までケーブル貫通部や観察装置埋込部位などに感染等の大きな問題はおきず、動物実験の管理体制にも問題はなかった。しかしながら、長期観察を考慮した場合、皮膚を貫通することなく観察ができる事が望ましいため、デバイスの改良を続ける予定である。観察デバイスは広背筋にしっかりと固定しているため、本実験では大きな影響がでなかったものの、体動等で埋込部が飼育ケージ等に接触した際には、設置面が不安定になる可能性があるため、血管・組織新生に影響が生じる可能性が考えられる。そのため、観察装置の高さは可能な限り低いことが望ましい。また、現在は長期飼育の経験のある動物としてヤギを実験動物として使用しているが、観察装置がより小型化させることが可能になれば、より管理が行いやすい小型の生体を実験対象としようすることが可能になると考えられる。皮膚を貫通しているケーブルは、観察装置駆動のための電力を供給するために必要不可欠な要素であるが、感染の原因ともなりやすく、排除することがのぞましい。観察に必要な電力を非接触給電か体内埋込電池を使用することで、感染の恐れのある皮膚貫通ケーブルを排除することが可能であると考えられる。

5.5.2 画像取得

実験開始から数ヶ月に渡って観察を続けた。その期間、数度外部モニター PC の不具合により画像を取得できないことがあった。これは観察装置の制御および取得の際に PC に大きな負荷が掛かるために、PC の OS がハングアップすることが原因で、その対策を幾重にも講じたがそれでも完全に防ぐことはできなかった。また実験動物が体動等でケーブルを引き抜くという事故がおきた。この対策として、外部モニター PC と観察装置の接続が切れた場合にアラートを出すよう改善を行った。これらの対策により、本例にあげた実験とは別に、最長で 355 日間画像を安定して取得することが可能となった。

5.5.3 画像の画質

これまでに Type III 観察装置を 12 個作製したが、初期に作製した観察装置では、作製の不慣れから接着剤や鏡筒が画角に写り込むという問題が生じた。この問題は作製熟練度が向上するにつれて改善できた。高解像度の CMOS 素子を使用し、オートフォーカス機能を実装したことで、これまでよりも鮮明な画像を得られた。また Type II の観察装置で生じた光源の問題も改善され、ハレーションが写り込むことはなかった。その結果、より詳細な血管新生の経時的な変化を観察することが可能となった。