第5節 哺乳類の解剖 (実験動物)

5.1 マウスの取扱法

- 【**目 的**】動物実験においては、正確な結果を得るためと動物に不要な苦痛を与えないために、適切な動物の取り扱いが必要である。本実験ではマウスの基本的な取扱法を習得する.
- 【図 版】以下のこの節の説明は、机上の図版冊子を併せ参照することを前提に記述されている.図 版集のpdfファイルが必要な場合はCD-ROMを借りに来ること.
- 【安全上の注意】マウスを取り扱う際は以下に記した取扱法に従い、噛まれたり引っかかれたりしないように注意すること.動物に不要な負担をかけない.けがをした場合、直ちに担当教員に告げる.傷口を開いて流水(水道水)で良く洗浄した後にエタノール、希ヨードチンキ等で殺菌するなど、必要な処置をとる.
- 【個体識別・簡便法】ピクリン酸溶液(70%エタノール飽和溶液)を綿棒でマウスの頭,背中などの被毛の流れに逆らって地肌に塗る(色素が流れて広がらないため).頭,背部中央,背部尾根付近,左前肢付根,左後肢大腿部,右前肢付根,右後肢大腿部をそれぞれマークすることで7匹まで区別できる.
- 【ハンドリング・保定方法】尾を摘んで静かに持ち上げ、尾を持ったまま自分の衣服などにつかまらせる(尾の根元に近いところを持たないと、尾を持っている手に噛みつかれることがある). 首から背部の皮膚を掴んで保定する(薬剤の投与などの処置は利き手で投与行うので逆の手で保定する). 以下、右利きの場合を説明する. 右手でマウスの尾を持って金網などの上に乗せ、尾を軽く引くとマウスが金網につかまって止まるので、すぐに左手の人差し指をコの字に曲げた側面と親指の腹で首から背部にかけての皮膚を大きくたぐって掴む(人差指と親指の前縁はマウスの耳の位置におく). 背部皮膚をつかんだらマウスの尾を引っぱり加減にして左手の薬指と手のひらの間にはさんで固定する.
- 【強制経口投与法・胃ゾンデ法】注射器に胃ゾンデを装着し(胃ゾンデの凹に湾曲している側を注射器の目盛のついている側に合わせる),投与溶液を吸引し、保定したマウスの口から食道を経由して胃に胃ゾンデを挿入し、溶液を注入する.この際、注射器は目盛を手前にしてゾンデ先端を下(小指側)にし、中指と親指でしっかり保持する.ゾンデをマウスの体軸と平行になるようにし(マウスの体がまっすぐになるようにしっかり保定することが大切)、咽頭部で抵抗を感じたらさらにマウスの背部にゾンデを軽く倒して挿入する.この時、動物はやや背をそらすような感じになる.
- 【腹腔内投与法】注射器に注射針をしっかり接続して投与溶液を吸引し、マウスを保定して腹腔内に注射針を刺して投与溶液を注入する。注射針を腹部の下から1/3位、正中線の右または左約5mmの位置に、腹壁に対して45°の角度で頭部に向かって挿入する。針先が皮下に入ると抵抗がなくなるのでさらに針を進めて腹筋を貫通させる。腹腔内に針先が達すると再び抵抗がなくなるので、針を止め、消化管を傷つけないように注意しつつ注入し、すばやく針を抜く。

【安楽死法】マウスの安楽死法にはいくつかの方法がある。本実習においては、炭酸ガス(二酸化炭素)の吸入による低酸素症にて安楽死に至らしめる。マウスを処理容器に収納した後に炭酸ガスを導入し、呼吸停止ならびに心停止による眼球、耳介等の変色を観察して確実に死亡させる。実験室の換気を十分に行うこと。使用後の処理容器は温水および洗剤で洗浄したあと乾燥させる。

5.2 成マウスの解剖法

- 【目 的】成マウスの解剖を行い、各種臓器の位置・形態を観察し、目的とする臓器の摘出・採取ができるようになる.
- 【試薬】70%エタノール,生理食塩水(0.9%NaC1水溶液)
- 【器 具】炭酸ガス処理容器(マウスの取扱法参照)、片丸はさみ(皮膚、筋肉などの切開用)、眼科 用はさみ(膜等の切開用)、ピンセット、解剖用バット、臓器摘出板、プラスチック製カップ、ろ 紙
- 【開 腹】炭酸ガス吸入により安楽死させたマウスの体重を測定後、解剖用バットの中に腹面を上にして保定する.70%エタノールで胸部・腹部の被毛を十分に濡らした後、皮膚の腹部正中線沿いを縦、腹部下端を横、肋骨下端部(横隔膜下部)を横方向に片丸はさみで切開する.最初は下腹部の皮膚をピンセットでつまみ上げてはさみで小さく切開し、切開口から皮下に片丸はさみの先が丸い方を入れて切り進む.雄では、皮膚を切開すると包皮腺が皮膚と腹筋の間に観察され、さらに皮膚を尾側に切開すると精巣(左右一対)が観察される.皮膚が切開できたら同様に腹筋を切開する.この時、腹腔内臓器を傷つけないよう、皮膚と腹筋をピンセットで軽くつまみ上げながら切開すること.
- 【腹腔内臓器の観察】腹腔内臓器を表面に近いものから腹腔内での状態(位置・形態)を観察後,順次摘出する. 摘出した臓器はプラスチックカップに入れた生理食塩水中で血液などを洗浄し,臓器摘出板の上に分類して置く. レポート用紙に記載された臓器は乾燥しないうちに重量を測定する. 腹部の皮膚および腹筋を切開すると,上腹部に肝(赤褐色)が観察される. 左上腹部の肝の下に胃(白色)の一部,左側腹部の上方に脾臓(濃赤褐色)の一部,胃の下部に膵(淡桃色で脂肪組織のようにみえる)が観察される. 腹腔内の大部分を小腸および大腸が占める. 下腹部には膀胱がある. 雄では膀胱の左右上部に精嚢腺,下部に精巣(白色)が観察される. 下腹部,腸間および腎周囲のほぼ白色で半透明の柔らかい組織が腹腔内脂肪で,加齢した動物で多い.
- 【肝の摘出】肝の腹腔内での位置と形態を観察してから摘出する. 摘出後, 頭尾左右の判定ができるように形態を覚えておく. マウスの肝は5葉(組織の塊)に分かれ,それらは肝の上方背面の1カ所でまとまってつながっている. この部分を肝門といい,肝に出入りする血管(動,静,門脈)と胆管が纏まって肝門を通り,葉の中で分岐している. 肝門の近傍に胆嚢が繋がっており,胆汁がたまっていると淡緑黄色に見える. 開腹したマウスを,頭を上にして縦に持つと,肝が腹腔内壁や横隔膜との間の透明な膜で脊柱部に繋がって保定されているのが観察される. この膜を眼科はさみで切り,最後に肝門の部分を切断(食道を切らないこと)すれば,肝を摘出できる. 肝組織は柔らかいので,ピンセットでつまむ時は肝門の部分を持つ. 摘出した肝は生理食塩水中で

洗浄して血液などを取り除き、各葉の大きさと形態等を観察する. 肝門の血管を切断すると出血するので、腹腔内にでた血液は生理食塩水を含ませた後よく絞ったキムワイプで除去する(血液が凝固すると観察し辛くなる).

【肝以外の腹腔内浅部の臓器】肝摘出後、消化管を観察する. 左上腹部に横隔膜を通過した食道に続 いて胃があり、その下部は直線状の短い十二指腸につながり、空腸、回腸(十二指腸、空腸、回 腸を小腸とよぶ)、盲腸、結腸、直腸(盲腸、結腸、直腸を大腸とよぶ)に続く.回腸と結腸の境 目から盲腸が突出している. 左側腹の横隔膜直下には脾がある. 脾は濃赤褐色の扁平な海鼠型で 堅い. 胃、十二指腸の下部を埋めるように、淡桃色の膵が観察される. 膵の付近には脂肪組織が 多いが,脂肪組織は白色で半透明であるのに対して,膵は淡桃色で不透明である.腸は脊柱部か ら腸間膜によってぶら下がるように保定されている. 大きな血管を切断しないようにしながら腸 間膜を切って腸管を延ばす、空腸は数回折り返して大きなループを形成しており、その間は扇形 に広がった腸間膜でつながっている.腸間膜には腸間膜動脈が観察され、それらは扇の要の部分 でまとまっている.空腸と回腸の間には明確な境界はないが,回腸は空腸と比べて大きなループ が形成されていない、回腸と結腸の境界には盲腸が開口している、盲腸は管状ではなく、一方の 端が閉じた行き止まり(盲端)の袋状である、マウスの盲腸はヒトと比べて相対的に大きい、大 腸は大部分が結腸であり、直腸は肛門付近の短い部分のみで壁の筋層が厚い. 結腸下部になるに つれて腸管内容物が固形になる(マウスの糞は堅い俵型)のが、壁を通して観察される。胃の上 部の食道との連結部と直腸の肛門付近を切断し、膵、脾とともに消化管の全体を摘出し、位置関 係を観察後、丁寧に分離する、雄の場合、雄性生殖器系と膀胱を摘出する、精巣の頭側から側面 にかけて精巣上体が付着しており、そこから左右1本ずつの輸精管が繋がり、いったん頭側に進 み膀胱の上部で合流する. 合流点にV字型の精嚢腺がある. 輪精管は反転して下降し、尿道に合 流する、膀胱の下部付近に前立腺が付着し、その尾側に尿道球腺がある、腎と膀胱をつなぐ輸尿 管を膀胱の近くで切断し、膀胱下部で尿道を切断すると、雄性生殖器系が摘出できる、全体の形 態を観察後、各器官を分離する.

【腹腔内深部の臓器】消化管を除去すると,腹腔内壁に密着した腎臓,その頭側に付着する胡麻粒大の副腎(白色)および雌では雌性生殖器系(卵巣、卵管、子宮、膣)が観察される.腎臓は腹腔内の背側上部に左右1対あり,赤暗褐色で隠元豆型をしている.右側腎臓は左側腎臓に比べてやや頭側に位置する.副腎は左右の腎臓の頭側に接して1個ずつ存在する腎脂肪に包まれた小型の器官である.雌では左右腎臓の尾側に接して脂肪に包まれた卵巣が1対ある.尾側には糸玉状になった卵管が各1本ずつあり,子宮につながっている.マウスの子宮は左右の子宮角に分かれておりV字型をしている.左右の子宮角は子宮頚で合わさり,膣に続く.脊椎に沿って腹大動脈および後大静脈が走行し,それらから左右の腎臓,生殖巣(卵巣,精巣)につながる太い血管が枝分かれしている.位置と形態を観察後,まず腎臓を副腎と共に摘出し,副腎と腎臓を分離する.雌性生殖器系は膀胱をつけた状態で全体を摘出し、卵巣、卵管,子宮を分離する.

【頚部の解剖】腹腔内の臓器を摘出後、胸部および頚部の皮膚を正中線に沿って大きく切開し、さらに下顎部を左右に切開して皮膚を剥離する。下顎腺、耳下腺、リンパ節が皮膚裏面に付着しやすいので、皮膚のみを剥離するよう注意する。頚部皮膚の直下の左右に頸静脈が観察され、下顎腺がある。下顎腺を摘出するが、リンパ節を混入させないように注意すること。下顎腺を除去すると、頸部の中央に筋肉に包まれた気管が縦走し、その左右に頸動脈が走る。気管は軟骨が蛇腹状

に並んでいる (洗濯機の排水ホース状). 気管に付着した筋肉をピンセットで縦に裂いて開くと気管に付着した甲状腺 (赤色) が観察される. 甲状腺は、甲状軟骨 (気管の軟骨の中で幅の広い部分) の近傍に付着する非常に小さい器官である.

- 【開 胸】横隔膜と腹筋の境界を切開し、続いて片丸はさみを使用して、肋骨を胸部の周辺に沿って 逆U字型に切開し開胸する。肺および胸腺が胸腔内壁に膜で付着しているので、膜を切り離しな がら胸骨および肋骨を除去する。
- 【胸腔内の臓器】肋骨を除去すると、下部の中央に心(赤色)が観察される。この上部中央には胸腺が観察される。胸腺は幼若個体では大きいが、加齢にともなって小さくなり脂肪組織が混在するようになり、老齢個体では脂肪組織で置き換えられる。心の左右から頭側にかけて肺(淡桃色)が位置する。開胸すると肺胞の拡張がなくなるため、肺は収縮している。胸腺を摘出する。胸腺を除去すると、胸腔の上部の中心に気管があり、2本の気管支に分かれて肺につながっている。胸腔内での位置と形態を観察後、心および肺をそれぞれ摘出する。心は左右の心房、心室に分かれる。心房は頭側の左右に袋状になっており、心室に比べ小さい。マウスの肺は右肺が前葉、中葉、後葉、副葉の4葉に分かれており、左肺は前葉のみで分葉していない(左肺が分葉していないのは齧歯類の肺の特徴である)。心および肺を摘出すると胸腔の深部の中央に縦走する食道が観察される。
- 【頭部の解剖】頭部の皮膚を剥離すると、左右の耳孔の下部に耳下腺(淡黄土色)が観察される.皮膚のみを丁寧に剥離しないと、耳下腺が皮膚に付着した状態で取れてしまう.左右の耳下腺を摘出する.脳を観察するために頭蓋を冠状に切開する.まず、耳孔から片丸はさみの先がとがった方を入れ、前方に向かって頭蓋骨を切る.眼球の上方を通過したあたりで反転し、反対側も対称な線で頭蓋骨を切る.後頭部は前方の延長線で大きく半円形に切開する(頭蓋の後方を片丸はさみの刃の根本に近い部分で挟むようにして割ってもよい).頭蓋骨は堅いが脳の組織は非常に柔らかいので、力を入れすぎて損傷しないように注意する.頭蓋骨と脳の間を小型のピンセットで剥離しながら頭蓋骨を除去する.頭蓋骨を除去すると脳の背面が観察される.マウスの脳を背面から観察すると、中央に左右に分かれた表面のなめらかな大脳が観察される。マウスの脳を背面から観察すると、中央に左右に分かれた表面のなめらかな大脳が観察される。形の側面からピンセットを滑り込ませるようにして、脳と頭蓋骨の間を剥離し、脳全体を摘出する。脳に付随して延髄の一部が摘出される。背面から観察すると嗅球、大脳、中脳、小脳、延髄の各部が区別できる。腹面からは嗅球、大脳、小脳、延髄が区別でき、視交差、漏斗、橋等も観察できる。脳を摘出した頭蓋底部の中央に小さな骨の窪みがあり、そこに脳下垂体が残っている。