

# Ligation of the Primitive Left Atrium in Early Chick Embryo Caused Left Ventricular Hypoplasia, Irrespective of Changing Patterns of Intracardiac Flow

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/7933">http://hdl.handle.net/2297/7933</a>

## 原始左房結紮法による左室低形成鶏胎心の作成

## - “flow-molding theory” の検討 -

金沢大学医学部小児科学講座 (主任: 谷口 昂教授)

北 野 尚 史

(昭和62年2月6日受付)

中隔形成前の心臓管内に“左心系血流”と“右心系血流”が存在し、心血管系、特に心室とその中隔の形成に重要な役割を果たしているとする“flow-molding theory”は古くから提唱されている学説である。原始左房内血流の妨害による左室低形成鶏胎心の作成もその発生機序として心内血流パターンの変化による“左心系血流”の減少と“右心系血流”の増加が考えられていて、この従来の説を支持する実験として知られている。しかし、“flow-molding theory”は未だ実証された学説とはいえず、左室低形成鶏胎心の発生機序に関しても十分な検討がなされていない。今回、原始左房結紮法を用いて左室低形成鶏胎心を作成し、その発生機序について再検討した。方法は、Hamburger-Hamilton ステージ18~20の鶏胎の原始左房を結紮し、その前後の心内血流パターンを比較し、更に孵卵を続けた。孵卵6~8日後の鶏胎心を厚さ20 $\mu$ mの連続切片処理し、積分法によりその左右心室の各容量を求め、その経時的变化を検討した。実験の結果、①中隔形成前の心臓管内血流は互いに平行に走行する血流よりなり、“左心系血流”や“右心系血流”は存在しなかった。②結紮操作により心内血流パターンが変化しなかった鶏胎は72%あり、血流パターン変化群と非変化群の間に心室容量の有意差は認められなかった。③孵卵6日後の鶏胎で左室容量の低下は認められず、孵卵7日後以降、即ち心室中隔形成後に左室容量の低下が認められた。以上より、原始左房結紮法による左室低形成鶏胎心が“flow-molding theory”でいう“左心系血流”の減少と“右心系血流”の増加によって生じたとは考え難い。今回の実験の結果、結紮された左房のコンプライアンスの低下のため、右房から卵円孔を経て左房に流入する血流量が減少し、左室のvolume atrophyが生じ、左室低形成鶏胎心が作成されたと考えられる。

---

**Key words** chick embryo heart, volume atrophy, flow-molding theory

---

近年、先天性心疾患の診断法および外科的治療法の飛躍的進歩により、複雑心奇形を含む先天性心疾患の治療はめざましい発展をとげている。一方、先天性心疾患の成因に関しては、現在も解明が遅れており、先天性風疹症候群等一部を除き、その遺伝因子も環境因子も不明である。

正常心および奇形心の発生メカニズムの学説のひとつとして、Spitzer<sup>1)</sup>、Bremerら<sup>2)3)</sup>により提唱されたいわゆる“flow-molding theory”がある。これは、心臓発生のごく初期でまだ中隔形成のみない時期よりすでに原始心臓管には“左心系血流”と“右心系血流”が

存在し、心室中隔および動脈幹中隔はこの2本の血流のあいだに形成されるとするもので、これらの血流に異常が生ずると心奇形が発生するという仮説である。Bremer<sup>2)3)</sup>やJaffee<sup>4)7)</sup>は鶏胎心内を流れる赤血球の動きを観察し、“左心系血流”と“右心系血流”が確かに存在すると報告し、2本の血流は心室流出路ではらせん状の関係にあり、これが将来の大動脈-肺動脈のらせん状の関係を形作るとした。更にその後、実験的心奇形学の発達に伴い、この学説を支持するいくつかの実験が報告された。例えば、胎生初期の鶏胎心で原始心房や共通房室弁口の左側で血流を妨害する手術を

---

Abbreviations: AVC, atrioventricular canal; C, conotruncus; COT, common omphalomesenteric trunk; LA, primitive left atrium; LBA left branchial arteries; LLVV, left lateral vitelline vein; LV, left ventricle; PV primitive ventricle; RA, primitive right

施すと、“左心系血流”が減少し、逆に“右心系血流”が増加し、心室中隔はこれらの血流のあいだに形成されるため、左室低形成心が生ずると考えられた<sup>8)~10)</sup>。

ところが最近、Yoshida ら<sup>11)</sup>は正常鶏胎の卵黄静脈に色素を注入する新しい方法を用い、鶏胎心の血流パターンを詳細に観察した。その結果、原始心臓管内には中隔形成前より2種類の血流が確かに存在するが、心室流出路で互いに平行な関係にあるなど、従来の報告とは明らかに異なる血流パターンが見られ、“flow-molding theory”そのものに大きな疑問が投げかけられた。Yoshida ら<sup>11)</sup>の報告が正しいとすれば、“flow-molding theory”で説明されていた左室低形成鶏胎心の発生メカニズムは何であろうか？

このような疑問から、本研究では原始左房結紮法を用い、左室低形成鶏胎心を作成し、その発生機序を再検討した。その結果、結紮前後の心内血流パターンや左室低形成の発現時期およびその機序について興味ある知見を得たので報告する。

#### 材料および方法

ホワイテグホーン受精卵の鈍端を上固定して、 $39.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、約60%の湿度で孵卵を76~80時間続け、以下に述べる実験操作Iを加えた。

##### I. 実験操作I

1. 孵卵器より取り出した受精卵の鈍端の気室を被う卵殻を除去した後、約 $42^\circ\text{C}$ の恒温槽内に、受精卵の下方約2/3が温水に侵るように固定し、鶏胎が $38\sim 39^\circ\text{C}$ に保温されるようにした。鶏胎を実体顕微鏡(Nikon, 東京)下にとらえ、以下の2~6の操作を行った。顕微鏡の倍率は20~40倍で、操作により適宜変更した。

2. 鶏胎とその周囲を被う外膜と羊膜を取り除き、露出された鶏胎がHamburger-Hamilton<sup>12)</sup>ステージ18~20であることを確認した。

3. 正常の鶏胎は右側を上方に向けているので、滅菌したピンセットを用いて鶏胎の左側が上方になるように鶏胎を反転させ、原始左房を被っている薄い胸壁を取り除いた後、滅菌したピンセットで鶏胎を一旦、正常の状態(鶏胎の右側を上方に向けた状態)に戻した。

4. 結紮前の正常心内血流パターンを確認するため、Yoshida ら<sup>11)</sup>の方法を用いて、下記の色素を充滿させたマイクロピペットを左右の卵黄静脈に挿入し、色素をそれぞれの静脈内に注入し、その原始心臓管内

の走行を観察した。色素として、催奇形性の少ない0.4%エバンスブルー稀釈液を用い、約 $0.01 \mu\text{l}$ 注入した。

5. 再び鶏胎を反転し、原始左房の1/3~2/3を滅菌した10-0ナイロン糸で結紮し、滅菌した剪刀で結紮糸断端をできるだけ短く切り除いた後、滅菌したピンセットで再度正常の状態に戻した。

6. 結紮後の血流パターンを観察するため、4と同様の方法で色素を再注入した。注入部位には、4で卵黄静脈に注入したと同じ場所を用い、注入量も約 $0.01 \mu\text{l}$ とした。

7. 恒温槽から受精卵を取り出し、卵殻の水分をふきとり、卵殻を除去した部分をパラフィルムで被い、鶏胎や卵黄がパラフィルムと接触しないように注意し、孵卵器に戻し、更に孵卵を続けた。

以上の操作は5~10分を必要としたが、このあいだ心拍数減少や心拍不整が認められた鶏胎および実験操作のために出血した鶏胎は、実験の対象から除外した。また、全身の奇形を伴った鶏胎や露出時すでに左側を上方に向けていた鶏胎も実験対象から除いた。

擬似手術対照群は、原始左房結紮以外、上記と同様の操作を施行した。

実験操作Iの終了後、孵卵器に戻した受精卵を更に3~5日間(孵卵開始後6~8日間)孵卵を続け、生存した鶏胎に以下の実験操作IIを施行した。特に、結紮後血流パターンが変化した鶏胎は、8日後まで孵卵を続けた。正常対照群、擬似手術対照群についても、実験操作IIを施行した。

##### II. 実験操作II

1. 鶏胎を卵殻より取り出し、実体顕微鏡下に心臓を露出させ、2.5%グルタルアルデヒド水溶液を臍腸間膜幹に急速に注入し、心臓を拡張性に固定した。

2. 固定した心臓を圧迫しないように摘出し、10%ホルマリン内に3~5日間保存した。

3. 摘出心をアルコール脱水処理後、パラフィン包埋し、心尖部より戻室弁までの連続切片に処理し、スライドガラス上に固定した。

4. テレビカメラ(Ikegami, 東京)に接続した実体顕微鏡下にパラフィン包埋切片を置き、50倍に拡大した左右両心室切片断面をブラウン管に描出した。ブラウン管描出後にトレーシングペーパーをあて、各心室の内腔断面図を模写した。

5. トレーシングペーパーに模写した心室内腔断面図をローラープランメーターを用いて計測した。各切

atrium; RBA, right branchial arteries; RLVV, right lateral vitelline vein; RV, right ventricle; SV sinus venosus.

片毎の心室内腔面積を  $S$  ( $\text{mm}^2$ ) とすると、心室容積  $V$  は積分法を用いて以下の式により算出される。

$$V(\text{mm}^3) = d \sum_{i=1}^n S_i \quad (d: \text{切片の厚さ } 0.02 \text{ mm})$$

### 成 績

実験に供した鶏胎 250 例のうち、操作 I, II を施行し得た 25 例の原始左房結紮心と 9 例の擬似対照群および操作 II を施行した 16 例の正常対照群より以下の成績を得た。

#### I. 心内血流パターン

##### 1. 原始左房結紮前の心内血流パターン

適量の色素注入により、卵黄静脈より動脈円錐 (conotruncus, C) に至る血流の走行が観察され、次に述べる所見が得られた。a) 色素の流れは全例層流で、乱流は認められなかった。b) 色素の走行パターンは次の 2 つのタイプのいずれかを示した (図 1)。タイプ 1: 総臍腸間膜幹 (common omphalomesenteric trunk, COT) と静脈洞 (sinus venosus, SV) の間

ではその背側、原始心室 (primitive ventricle, PV) と C の間ではその腹側を走行する血流パターン。タイプ 2: COT と SV の間ではその腹側、PV と C の間ではその背側を走行する血流パターン。c) 左右両卵黄静脈からの注入色素の流れは、図 1 のタイプ A, B のいずれかを呈した。即ち、タイプ A は、右卵黄静脈からの注入色素はタイプ 1、左卵黄静脈からの注入色素はタイプ 2 の走行をとる血流パターンであり、タイプ B は、右卵黄静脈からの色素はタイプ 2、左卵黄静脈からの色素はタイプ 1 の走行を示すパターンである。

タイプ A, B、いずれも心臓管内、少なくとも COT と SV, PV と C の間では、タイプ 1 およびタイプ 2 における色素の流れは互いに平行な関係にあり、らせん状の血流走行は認められなかった。血流走行はステージ 18 の鶏胎では 8 例中 6 例においてはタイプ A で、他の 2 例ではタイプ B であった。一方、ステージ 19, 20 の鶏胎では、血流走行は 17 例中 12 例でタイプ B で、他の 5 例はタイプ A であった。e) 両卵黄静脈からの注入色素の量を約  $0.01 \mu\text{l}$  に保った場合、観察され

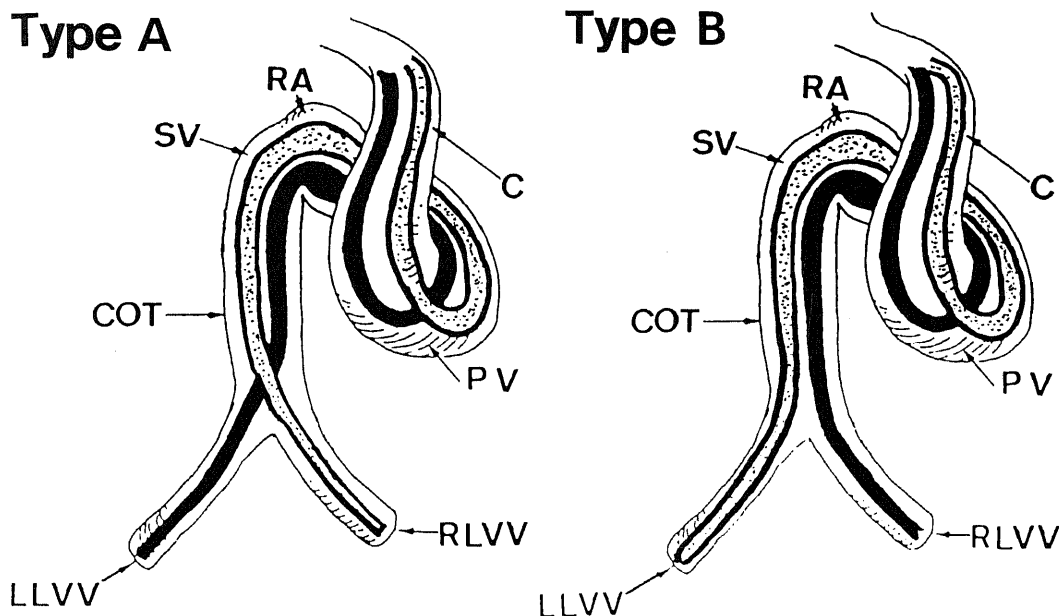


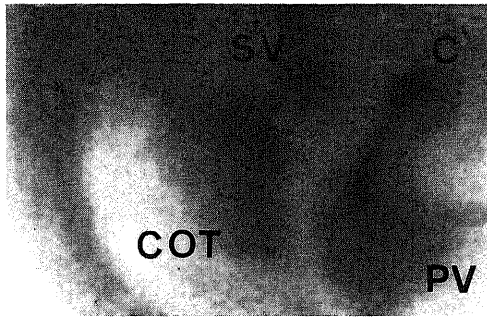
Fig. 1. The general flow patterns in the primary heart tube.

Two streams, type 1 (dotted stream) and type 2 (solid stream), are observed. The former runs along the dorsal portion of the common omphalomesenteric trunk (COT) and sinus venosus (SV), and proceeds to the ventral portion of the primitive ventricle (PV) and conotruncus (C). The latter courses through the ventral part of COT and SV, running along the dorsal wall of PV and C. Type A; the dye stream from the right lateral vitelline (RLVV) assumed type 1, whereas that from the left lateral vitelline vein (LLVV) has a type 2 pattern. Type B; the stream from RLVV assumed type 2, whereas that from LLVV has a type 1 pattern. Both type A and B, the two streams run parallel to each other between COT and SV and between PV and C; no spiral stream is observed.

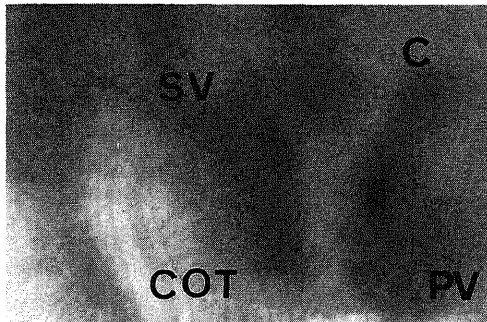
る色素流の太さはほぼ同等であった。

## 2. 原始左房結紮後の血流パターン

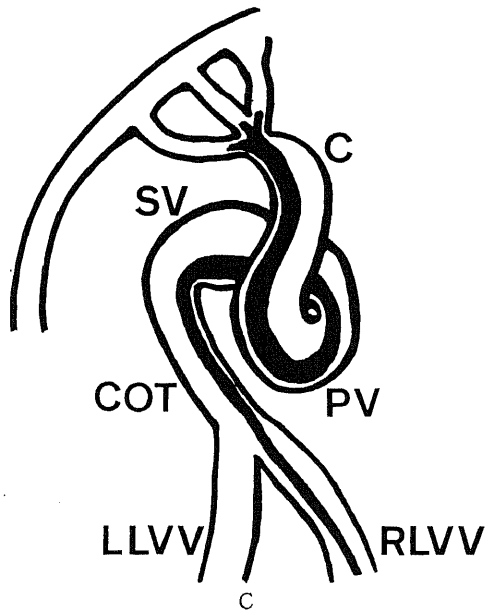
結紮による心内血流パターンの変化は25例中7例に認められた。血流パターンの変化としては、(1)両方



A



B



C

の卵黄静脈からの流入血流パターンが結紮後に逆転した例、例えば、結紮によりタイプAからタイプBに変化した鶏胎が1例に認められ、逆にタイプBからタイプAに変化した鶏胎も1例に認められた。また、(2)結紮により色素流の太さが変化した鶏胎が5例に認められた。色素流の太さの変化は左右両卵黄静脈いずれも結紮前の1.2~1.5倍程度に太くなった鶏胎が4例に、一方のみ太くなり、他方が変化しなかった鶏胎が1例に認められた。一方のみ太くなり、他方が細く変化した鶏胎は認められなかった。

25例中18例では、結紮による血流パターンの変化は認められなかった(図2, 3)。

## II. 心奇形

図4, 5に示すように、原始左房結紮により、左室低形成心が作成された。連続切片標本の分析によれば、奇形心の左室は、正常対照群と同様、円錐形を呈するが、その心室壁は若干肥厚傾向を示した。孵卵7日あるいは8日後の鶏胎において、21例中3例の心室中隔に小欠損を認めたが、他の18例の心室中隔は完全に形成されていた。

## III. 心室容量

正常対照群および原始左房結紮群の左右心室の容量(それぞれLV, RV)を図6に、左右心室容量比(LV/RV比)を図7に示す。

### a) 正常対照群

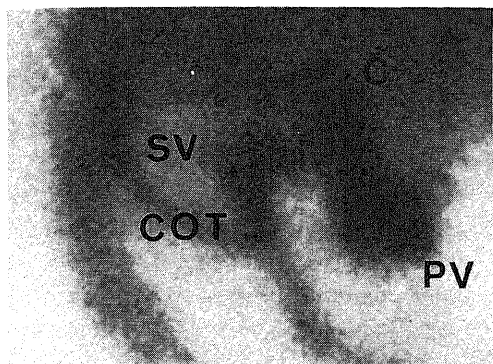
孵卵6~8日後の鶏胎では、LVとRVは1日毎にほぼ同様に増加し、孵卵6日後、7日後および8日後の鶏胎のLV/RV比はほぼ一定の値を示し、それぞれ間に有意差を認めなかった。

### b) 原始左房結紮群(結紮心)

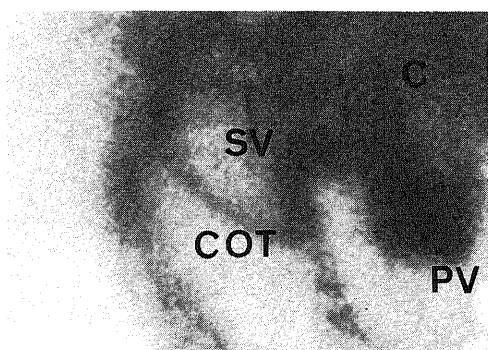
孵卵6日後の結紮心では、LV, RV, LV/RV比のいずれも正常対照群との間に有意差を示さなかった。

孵卵7日後と8日後の結紮心では、それぞれの正常対照群と比較すると、LV, RV, LV/RV比のいずれも低値であり、特にLVおよびLV/RV比の低下が著し

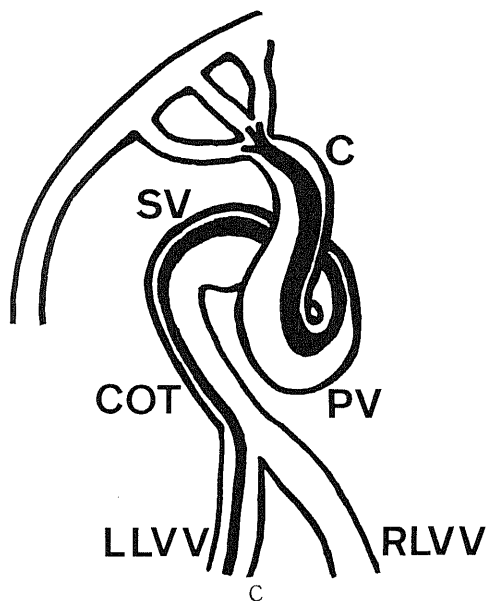
Fig. 2. The dye stream from the right lateral vitelline vein (RLVV) observed in the primary heart tube of the stage 20 chick embryo. Part A; Before manipulation. Part B; after tying off the primitive left atrium. Both before and after tying off the primitive left atrium, the dye stream from RLVV, as shown in Part C; has a type 2 pattern; passing along the ventral wall of the common omphalomesenteric trunk (COT) and sinus venosus (SV), and then along the dorsal wall of the primitive ventricle (PV) and conotruncus (C).



A



B



C

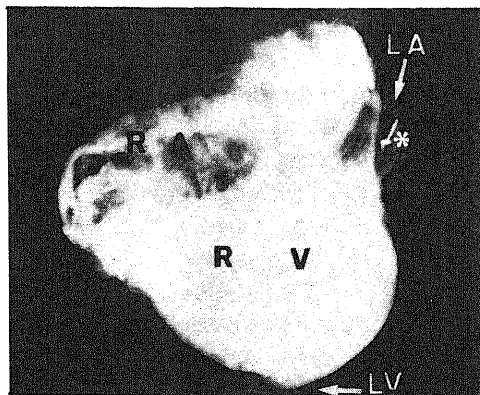


Fig. 4. The manipulated heart of the chick after 8 days of incubation. The hypoplastic left ventricle (LV) is seen behind the right ventricle (RV). Star (\*) represents the thread tying off the left atrium (LA), that is smaller than the right atrium (RA).

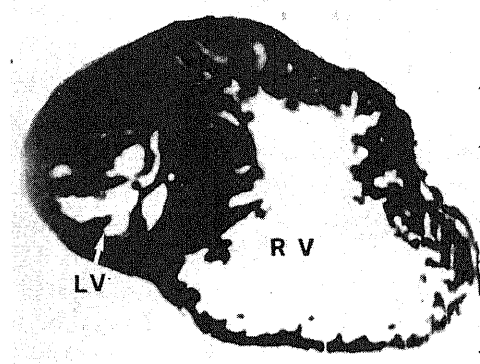


Fig. 5. The microdissected heart. The left ventricular cavity (LV) is much smaller than the right ventricular cavity (RV). The wall of the left ventricle seems to be thicker than that of the right ventricular cavity.

Fig. 3. The intracardiac dye stream from the left lateral vitelline vein (LLVV) of the same chick shown in Fig. 2. Part A; before manipulation. Part B; after tying off the primitive left atrium. Schematic drawing of the intracardiac flow pattern of both Part A and B. The dye stream has a type 1 pattern, irrespective of ligation of the primitive left atrium.

かった。

原始左房結紮による心内血流パターン、即ち、色素流の太さあるいはその心内走行パターンのタイプの変化の有無と心室容量との間の相関の有無を検討するため、孵卵8日後の結紮心を用いて、血流パターン変化群と血流パターン非変化群を比較した。その結果、LV、RV、LV/RV比のいずれに関しても、血流パターンの変化群と非変化群との間に有意差を認めなかった。

### 考 察

Bremer<sup>2)3)</sup>は早期鶏胎の心臓管内の赤血球の走行を実体顕微鏡下に観察し、中隔形成前よりすでに互いに

らせん状に走行する2本の血流の存在を示唆した。彼の学説によると、一方の血流は原始心房の右房側を経て、将来右室になる部分に至る“右心系血流”で、他方の血流は原始心房の左房側から将来左室になる部分に流れる“左心系血流”である。彼は、中隔の形成はこれらの2本の血流の間にはじまり、両心室の大きさは2本の血流の相対的な太さ（血流量）によって決定されると考えた。即ち、血流が心形成、特に心室とその中隔の形成に重要な役割を果たしているとする“flow-molding theory”を彼は提唱した。Goettler<sup>13)</sup>はガラス管による心臓管モデルを用いた実験により、またJaffee<sup>4)~7)</sup>は鶏胎や蛙を用いた実験により、この

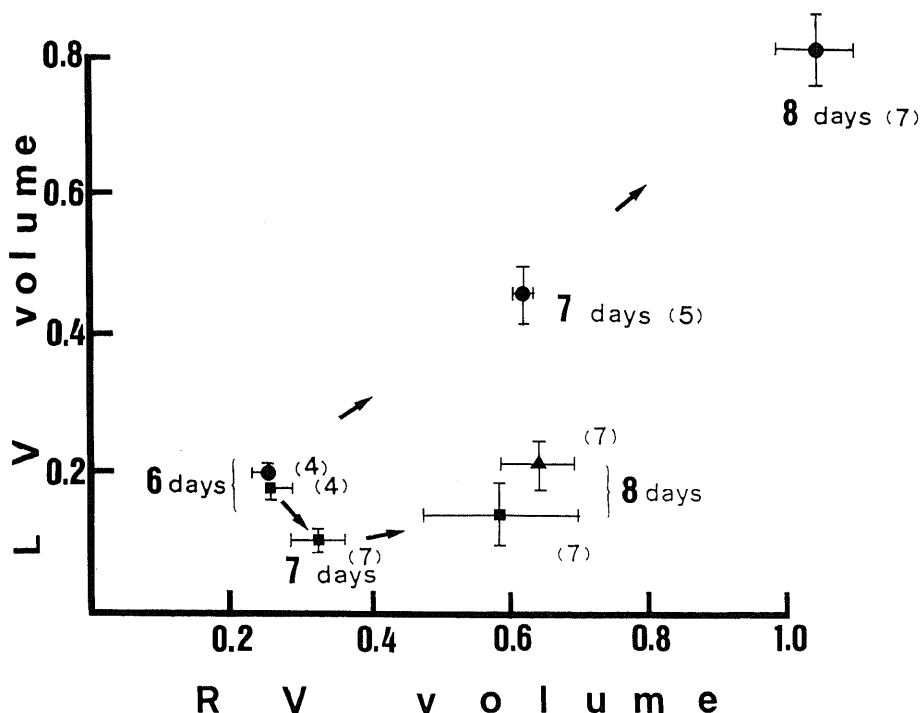


Fig. 6. The volume of the right ventricle (RV) and the left ventricle (LV).

In normal hearts, the volumes of both LV and RV increased proportionally day by day. Before the 6th gestational day, the manipulated hearts developed almost normally and the volumes of both chambers were not much smaller than those of normal hearts. In contrast, the volumes of both LV and RV were significantly smaller than in normal hearts after the 7th day of incubation. To determine whether blood flow patterns play an important role in producing left ventricular hypoplasia, we compared hearts (which had been incubated for 8 day) in which ligation of the primitive left atrium led to altered flow patterns with those in which manipulation had no flow pattern effect. There were no significant differences between these two groups in either the left ventricular volume or the right ventricular volume. ●, normal hearts; ■, manipulated hearts in which tying off the primitive left atrium did not alter intracardiac flow patterns; ▲, manipulated hearts in which ligation led to changing patterns of intracardiac flow. Each point represents mean  $\pm$  S.E. The numbers in parentheses are the number of materials.

学説を支持する結果が得られたことを報告している。

一方、Rychter<sup>9)</sup>の詳細多岐にわたる実験をはじめ、多くの心奇形が実験的に作成されているが<sup>14)~16)</sup>、これらの心奇形の発生機序も“flow-molding theory”を中心に論じられてきている。例えば、左室低形成鶏胎心は、①原始左房の一部をクリップでとめる<sup>9)</sup>、②原始左房の一部を結紮する<sup>10)</sup>、③共通房室弁口の左側に細いナイロン糸を挿入する<sup>9)</sup>方法などで作成されることが報告されており、左室低形成心の発生機序は以下のように説明されている(図8)。即ち、中隔形成前の心臓管にはすでに“右心系血流”および“左心系血流”が存在している。上述の①~③の方法は、これらの血流のうち“左心系血流”のみを選択的に障害するので、“左心系血流”の一部が“右心系血流”に合流し、“左心系血流”が減少し、“右心系血流”が増加する。心室中隔が

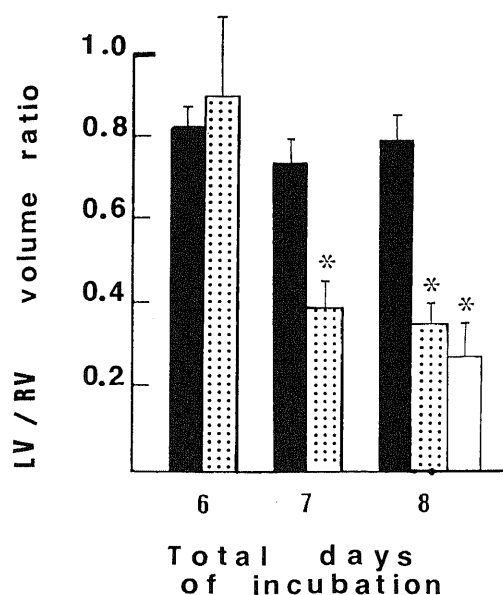


Fig. 7. The LV/RV volume ratio.

In the normal hearts, both the left ventricular volume and the right ventricular volume developed proportionally day by day. The volume ratio of the manipulated hearts reduced after the 7th day of incubation. In the manipulated hearts which had been incubated for 8 days, the decrease in the volume ratio was found to be independent of alteration of the blood flow patterns. ■, normal hearts; ▨, manipulated hearts in which tying off the primitive left atrium did not alter intracardiac flow patterns; □, manipulated hearts in which ligation led to changing patterns of intracardiac flow. Values are mean  $\pm$  S.E. \*,  $p < 0.005$  vs normal heart by Student t-test.

形成するのはこの2本の血流の間であるため、結果的に左室容量が減少し、右室容量が増加する。以上が、左室低形成心の発生機序として従来考えられてきた仮説である。しかし、Clark<sup>17)</sup>が指摘するように、“flow-molding theory”は充分に証明された根拠に基づく学説とは言い難い。即ち、前述の左室低形成鶏胎心の発生機序に関しても、結紮等の操作による血流パターンの変化のみならず、正常鶏胎心における“左心系血流”や“右心系血流”の存在すら明確に示されていない。また左室低形成(左室容量低下)の発現時期に関して具体的に述べた報告もみられない。

最近、Yoshidaら<sup>11)</sup>は、マイクロアンギオグラフィー法を用いて、ステージ14~22の早期鶏胎の心内血流パターンを、卵殻内という生理的条件下で観察し、中隔形成前の心内血流パターンについて詳細に報告した。彼らの観察では2本の血流パターンを確認しているが、これらの血流は心室流出路で互いに平行に走行し、Bremer<sup>23)</sup>のいうらせん状の血流パターンは認められなかった<sup>11)</sup>。更に、これらの2本の血流のうち一方は主に鶏胎の左側に、他方は鶏胎の右側に還流し、2本の血流がそれぞれ将来の大動脈と肺動脈に注ぎ込むとする“flow-molding theory”と矛盾する血流走行であった。したがって、2本の血流はいずれも右心系あるいは左心系に選択的に流れているとは考え難いと結論している。

また、最近の位相差電子顕微鏡を用いた心室中隔形成期の鶏胎心室壁の詳細な観察により、心室肉柱が心内血流の方向とほぼ垂直に形成されると報告された<sup>18)</sup>。“flow-molding theory”では心室肉柱は血流に平行に形成されるべきであり、この点も“flow-molding theory”に一致しない。

今回の実験は、Sweeney<sup>10)</sup>と同様、原始左房結紮法により実験的左室低形成鶏胎心を作成し、結紮前後の血流パターンの変化と左室低形成の発現時期について検討した。その結果、従来の“flow-molding theory”と以下の点で一致しなかった。

1) 原始左房結紮前の血流パターンの観察の結果、心臓管内の血流は互いに平行に走行し、らせん状の血流走行は認められなかった。即ち、Yoshidaら<sup>11)</sup>の報告同様、中隔形成前の早期鶏胎心には、“左心系血流”、“右心系血流”いずれも存在しないことが示された。

2) もし観察された2本の血流が、Bremer<sup>23)</sup>のいう“左心系血流”および“右心系血流”であると仮定しても、結紮により一方の血流のみが太くなり、他方の血流が細くなることはなかった。4例の鶏胎では、結紮により左右両卵黄静脈からの流入色素がPVとCの間でいずれも太く変化した。これは色素を含んだ血



流と含まない血流が結紮部位で混合したためと考えることができる。興味ある所見として、結紮後の血流パターンの逆転現象が2例の鶏胎で認めることができた。即ち、結紮によりタイプAからタイプBに、あるいはタイプBからタイプAに変化した鶏胎がみられた。結紮のため鶏胎をピンセットで反転したが、この時に左右卵黄静脈の流入角度のわずかな変化、あるいはCOTの微妙なねじれ等の変化が生じたことが、血流パターン変化の原因と考えられる。Yoshidaら<sup>11)</sup>は、正常鶏胎の場合、血流パターンはステージ18ではタイプAを、ステージ19~20ではタイプBをとる傾向があると報告しているが、この血流パターンの変化の理由として、鶏胎の発達による卵黄静脈の流入角度のわずかな変化を想定している。今回の実験では、ステージ18では8例中6例がタイプAであったが、ステージ19~20では17例中12例がタイプBで残り5例はタイプAであった。Yoshidaら<sup>11)</sup>の報告に比して、今回の実験ではステージによる血流パターンの明確な傾向は認められなかったが、結紮前に胸壁剝離のために鶏胎を一度反転しているため、この時に一部の鶏胎で血流パターンが逆転したと考えることができる。

結紮による血流パターンの変化が心室形成に関与したか否かを検討するため、孵卵8日後の結紮心を用いて、血流パターン変化群と非変化群を比較したが、左

右心室容量やその比は両者間に有意差が認められず(図6, 7)、心内血流パターンの変化の有無にかかわらず、左室低形成心が作成されることが、本研究で判明した。

3) 今回の実験結果が“flow-molding theory”と矛盾する理由として、最後に左室低形成心の発現時期をあげることができる。Romanoff<sup>19)</sup>によると、正常な鶏胎の心室中隔形成は孵卵7日後までに完成することが知られている。今回の実験で観察した連続切片標本でも、心室中隔は6日後の正常鶏胎心ではまだ未完成であるが、7日後には小欠損を残すだけでほぼ完成し、8日後には全例完成していることが確認された。また最近の詳細な観察<sup>20)21)</sup>によれば、心内膜床の癒合は5.5~6.5日後(ステージ28~29)に完成することが報告されている。“flow-molding theory”によれば、結紮後“左心系血流”減少と“右心系血流”増加が生じ、その血流間に形成される心室中隔は正常な心臓に比し左室寄りに発生することになるので、中隔形成時にはすでに左室低形成が発現していなければならない。ところが、早期鶏胎の原始左房を結紮したにもかかわらず、中隔形成時の左右心室容量には正常鶏胎との間に有意差を認めず(図6)、中隔形成後に左室容量の低下がみられることが明らかになった。

正常鶏胎の心室容量を計測した実験は少なく、

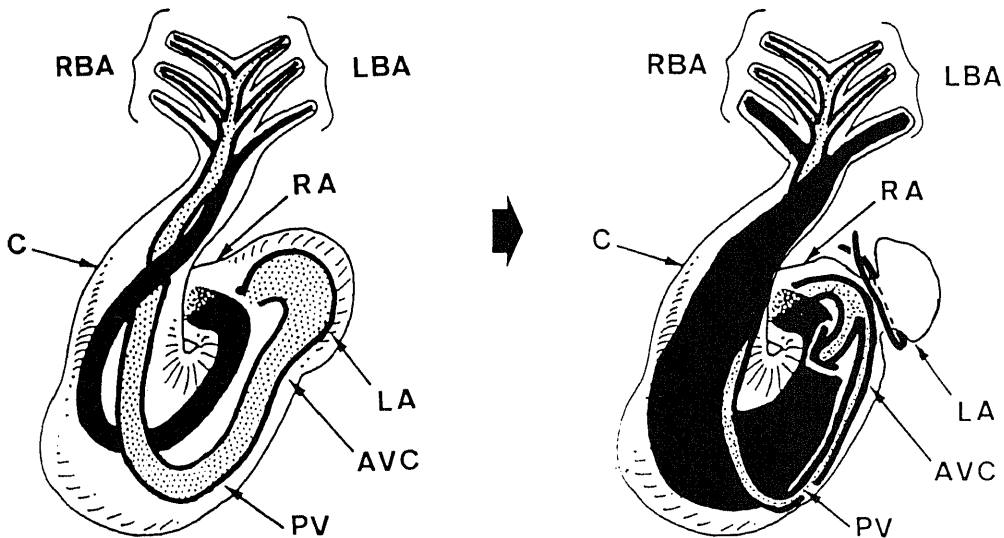


Fig. 8. The traditional “flow-molding theory”.

Mechanical interference of the left side of the primitive atrium makes the “left heart stream” smaller. Part of this stream flows into the “right heart stream”, and resulted in an expansion of the right ventricle. The septum forms between the streams. RA and LA, primitive right and left atrium respectively; RBA and LBA, right and left branchial arteries respectively; PV, primitive ventricle; C, conotruncns; AVC, atrioventricular canal.

Faber<sup>22)</sup>, Clark<sup>23)</sup>, Hughues<sup>24)</sup>の報告がみられる程度である。Faber<sup>22)</sup>は原始心室を回転楕円体とみなし、その長軸長 (a) と短軸長 (b) を計測し、心室容量  $V = (3/4)\pi ab^2$  としてその拡張期および収縮期の心室容量を算出した。Clark<sup>23)</sup>はドブラー血流計を用いた背側動脈血流速の測定により、その心拍出量を算出している。一方、Hughues<sup>24)</sup>は心室を回転体とみなし、孵卵 2.5~17 日後の鶏胎の心室容量を算出している。この方法によると孵卵 8 日後の鶏胎の拡張期心室容量は約  $5\text{ mm}^3$  であると報告されているが、この方法は心室全体を回転体として近似しているため、その精度に疑問があるうえ、左右各心室の容量は不明である。今回の実験では連続切片積分法によりその心室容量を算出したが、パラフィン包埋の前処理として、ホルマリン固定した摘出心臓をアルコール脱水処理したため、鶏胎心は肉眼的にも縮小して、必ずしも実際の心室容量を示してはいない。しかし、今回の実験の目的は正常および原始左房結紮心の経時的容量変化を検討することであり、この限りにおいて特に支障はないと思われる。

今回の実験の結果、左室低形成鶏胎心の発生機序について以下のように考えた。

Lev<sup>25)</sup>は、人間の左心低形成症候群の原因として、卵円孔の早期閉鎖や早期狭小化を考え、卵円孔における右房から左房への血流量の減少により、左室流入血流量が減少するためにこの疾患が生じる可能性を示唆した。今回の実験で左室低形成心が発生した原因についても、結紮されて小さくなった左心房のコンプライアンスが低下し、右房から左房へ流入する血流量が減少するため、心室中隔形成後の左心系の volume atrophy が生じたと考えることができる。この推論を支持する報告として Rychter<sup>9)</sup>の実験をあげることができる。彼は原始心房の左側の一部をクリップでとめることによって左心低形成心を作成し、その発生機序として原始左房内の血流の走行の障害を想定しているが、一方、原始心房の右側の一部をクリップでとめた場合、右心低形成心はほとんどみられなかったと報告している。“flow-molding theory”によれば、“右心系血流”の走行を障害することで左室の場合と同様に右室の低形成が作成されるべきであるが、Rychter<sup>9)</sup>の実験において明らかな右心低形成心が作成されなかった理由として次のように説明できる。胎生期の右房への流入血の一部は卵円孔を経て左房に流れ、残りの血液は右室に流入する。左房のコンプライアンスの低下は、右房から左房への血流量を低下させ、左室の volume atrophy が生じるが、右房のコンプライアンスが低下しても、卵円孔を経へ左房に至る血流量には限界があり、右房から右室に至る血流量は比較的保た

れる。原始左房クリップ操作による左室低形成心に比して原始右房クリップ操作による右室低形成心が発現し難いのは、流入血減少による volume atrophy が生じにくいと考えることができる。

また今回の実験に用いた方法は、原始左房結紮操作にあわせて 2 回のマイクロアンギオグラフィを施行したこともあって、結紮操作後 24 時間以内の致死率は極めて高かったが、孵卵 6~7 日後 (結紮操作後 3~4 日) の致死率も高かった。これは、心室中隔の形成に伴い、特に左室容量の低下による心拍出量の減少が生じるためであると考えた。また、孵卵 7~8 日後の鶏胎で、原始左房結紮操作により右室容量が低下していた理由も、心拍出量低下により、二次的に右室の volume atrophy が生じるためと推定された。

## 結 論

原始左房結紮法により、左室低形成鶏胎心を作成し、結紮前後の心内血流パターン、心室容量の経時的変化を検討し、以下の成績を得た。

1. 原始左房結紮前の正常心内血流は、互いに平行に走行する 2 種類の血流より成り、らせん状に走行する血流は認められなかった。

2. 結紮操作による心内血流パターンの変化は、25 例中 7 例 (28%) にのみ認められ、他は結紮後も同じ血流パターンを示した。

3. 左室低形成が発現するのは、孵卵 7 日後以降、即ち心室中隔が完成した後であった。また、血流パターンの変化の有無にかかわらず、左室容量の低下が認められた。

以上より、従来の“flow-molding theory”でいう中隔形成前より存在する“左心系血流”の減少と“右心系血流”の増加によって、左室低形成心が形成される説と矛盾する結果であった。

今回の実験の結果、左室低形成鶏胎心の発生機序として、結紮された左房のコンプライアンスの低下による左室流入血流量の減少のため、左室の volume atrophy が生じたと考えられた。

## 謝 辞

稿を終えるに臨み、御校閲を賜りました谷口昂教授に深謝いたします。また本研究の遂行にあたり当初より直接御指導をいただき、終始御懇篤なる御助言や御教示を仰ぎました芳珠記念病院小児科吉田均先生に深甚なる謝意を表します。また本研究に多大なる御協力をいただいた恩師中谷茂和助手はじめ小児科学教室循環器グループ諸先生方、川岸徳子氏はじめ中央検査部病理検査室の皆さまに深謝いたします。

なお、本論文の要旨の一部は第 50 回日本循環器病学会学

術集会 (昭和 61 年, 京都) において口述発表した。

### 文 献

- 1) **Spitzer, A.** : Uber den Bauplan des normalen und missbildeten Herzens. Versuch einer phylogentischen Theorie. *Virchow Arch Pathol. Anat.*, **243**, 81-201 (1923).
- 2) **Bremer, J. L.** : An interpretation of the development of the heart. *Am. J. Anatomy*, **42**, 307-369 (1928).
- 3) **Bremer J. L.** : The presence and influence of two spiral streams in the heart of the chick embryo. *Am. J. Anatomy*, **49**, 404-440 (1932).
- 4) **Jaffee, O. C.** : Hemodynamics and cardiogenesis: The effects of altered vascular patterns cardiac development. *J. Morphol.* **110**, 217-225 (1962).
- 5) **Jaffee, O. C.** : Hemodynamic factors in the development of the chick embryo heart. *Anat. Rec.*, **151**, 69-76 (1965).
- 6) **Jaffee, O. C.** : Rheological aspects of the development of the blood flow patterns in the chick embryo heart. *Biorheology*, **3**, 59-62 (1966).
- 7) **Jaffee, O. C.** : The development of the arterial outflow tract in the chick embryo heart. *Anat. Rec.*, **158**, 35-42 (1967).
- 8) **Rychter, Z.** : Experimental morphology of the arches and the heart loop in the chick embryo. *Adv. Morphol.*, **2**, 333-371 (1962).
- 9) **Harh, J. Y., Paul, M. H., Gallen, W. J., Friedberg, D. Z., & Kkplan, S.** : Experimental production of hypoplastic left heart syndrome in the chick embryo. *Am. J. Cardiol.*, **31**, 51-56 (1973).
- 10) **Sweeney, L. J.** : Morphometric analysis of an experimental model of left heart hypoplasia in the chick. Ph. D. Thesis, Omaha. University of Nebraska Medical Center, Nebraska, 1981.
- 11) **Yoshida, H., Manasek, F. J., & Arcilla, R. A.** : Intracardiac flow patterns in early embryonic life; A reexamination. *Circ. Res.*, **53**, 363-371 (1983).
- 12) **Hamburger, V., & Hamilton, H. L.** : A series of normal stages in the development of the chick embryo. *J. Morphol.* **88**, 49-92 (1951).
- 13) **Goertler, K.** : Uber Blustromwirkung als Gestaltungsfaktor fur die Entwicklung-Des Herzens. *Beitr. Path. Anat.*, **115**, 33-65 (1955).
- 14) **Gessner, I. H.** : Spectrum of congenital anomalies in chick embryos by mechanical interference with cardiogenesis. *Circ. Res.*, **18**, 625-633 (1966).
- 15) **Arteaga, M., De la Cruz, M. V., Sanchez, C. & Diaz, C. F.** : Double outlet right ventricle: Experimental morphogenesis in the chick embryo heart. *Ped. Cardiol.*, **3**, 219-227 (1982).
- 16) **Aranega, A., Egea, J., Alvarez, L., & Arteaga, M.** : Tetralogy of Fallot produced in chick embryos by mechanical interference with cardiogenesis. *Anat. Rec.*, **213**, 560-565 (1985).
- 17) **Clark, E. B.** : Functional aspect of cardiac development, p.81-103. In R. Zak (ed.), *Growth of the heart in health and disease*, Raven Press, New York, 1984.
- 18) **Ben-Shachar, G., Arcilla, R. A., & Manasek, F. J.** : Ventricular trabeculations in the chick embryo hearts and their contribution to ventricular and muscular septal development. *Circ. Res.*, **57**, 759-766 (1985).
- 19) **Romanoff, A. L.** : The avian embryo; Structural and functional development. first ed. p.707-712. Macmillan Co. New York, 1960.
- 20) **De la Cruz, M. V., Gimenez-Ribotta, M., Saravalli, O., & Cayre, R.** : The contribution of the inferior endocardial cushion of the atrioventricular canal to cardiac septation and to the development of the atrioventricular valves: Study in the chick embryo. *Am. J. Anat.*, **166**, 63-71 (1983).
- 21) **Garcia-Pelaez, I., Diaz-Gongora, G., & Martinez, M. A.** : Contribution of the superior atrioventricular cushion to the left ventricular infundibulum. *Acta. Anat.*, **118**, 224-230(1984).
- 22) **Faber, J. J., Green, T. J., & Thornburg, K. L.** : Embryonic stroke volume and cardiac output in the chick. *Developmental Biology*, **41**, 14-21 (1974).
- 23) **Clark, E. B., & Hu Norman.** : Developmental hemodynamic changes in the chick embryo from stage 18 to 27. *Circ. Res.*, **51**, 810-815 (1982).
- 24) **Hughes, A. F. W.** : The heart output of the chick embryo. *J. Roy. Microsc. Soc.*, **69**, 145-152 (1949).
- 25) **Lev, M., Arcilla, R., Rimolgi, H. J. A., Licata, R. H., & Gasul, B. M.** : Premature narrowing or closure of the foramen ovale. *Circulation*, **65**, 638-647 (1963).

**Ligation of the Primitive Left Atrium in Early Chick Embryo Caused Left Ventricular Hypoplasia, Irrespective of Changing Patterns of Intracardiac Flow**

Naofumi Kitano, Department of Pediatrics, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med. Soc., **96**, 279—289 (1987)

**Key words:** chick embryo heart, volume atrophy, flow-molding theory

**Abstract**

It is a traditional view that two spiral streams in the primary heart tube play an important role in the development of the embryonic heart. One stream is the so-called “left heart stream” which leads into the future left ventricle. The other is the so-called “right heart stream” flowing into the future right ventricle. Some investigators, supporting this “flow-molding theory”, produced hypoplastic left heart disease by clipping or tying off the primitive left atrium. Their studies lead to similar conclusions as follows. Mechanical interference on the left side of the heart alters the flow patterns of the “left heart stream” which becomes smaller. The “right heart stream” becomes larger because part of the “left heart stream” diverts into it. Septation occurs between these streams. This is thought to be the hemodynamic situation when hypoplastic left heart disease is induced. It must be noted, however, that previous reports provide only inferential support of this “flow-molding theory”. We examined whether intracardiac blood flow patterns really play an important role in producing left ventricular hypoplasia. The intracardiac blood flow patterns of chick embryos in Hamburger-Hamilton stage 18 to 20 were observed by dye-injection before and after tying off the primitive left atrium. The embryos were incubated until the 6th, 7th, or 8th gestational day. The embryonic hearts were perfusion fixed and microdissected in about 20 micrometer thicknesses and the volumes of the right and left ventricular chambers were measured with an integration method to determine the stage at which left ventricular hypoplasia starts. Our results confirmed that (1) There are two streams which flow parallel to each other; spiral streams were not observed. (2) Ligation of the primitive left atrium did not alter the blood flow patterns in 72% of the embryos. (3) Left ventricular hypoplasia was induced irrespective of changing patterns of intracardiac blood flow. (4) Left ventricular hypoplasia was produced after the 7th gestational day when the septum is almost complete. We concluded that intracardiac blood flow is not an important factor in the production of left ventricular hypoplasia. The flow volume from the right to the left atrium may be reduced after atrial septation because the tied left atrium has decreased compliance. The diminished flow volume might then prevent the full development of the left ventricular chamber. We concluded that volume atrophy rather than pathway alteration is a more likely cause of left ventricular hypoplasia after ligation of the primitive left atrium.