

# 初期および孵化中の胚における瞬時心拍数計測

電気・情報系（情報工学科）三林 光

## 1 緒言

鳥類胚の心拍数計測に応用されているものとして、心弾動図（BCG）やアコーストカーディオグラム（ACG）がある。しかし、これらは鶏胚の全孵卵期間（21日間）の中で孵卵初期および孵化中の瞬時心拍数（IHR：instantaneous heart rate）の計測には適していなかった。そこで本研究では、鶏胚について、初期胚を含めた孵卵前期の胚（3～10日令）にはインピーダンスカーディオグラム（ICG：impedance cardiogram）を、孵化中の胚を含めた孵卵終期の胚（17～21日令）には心電図（ECG：electro cardiogram）を用いてIHRを計測し、その成長パターンを調べることを目的とした。また、孵卵前期の胚のIHR計測の応用として環境酸素濃度を変化させてIHRを計測し、酸素濃度変化の影響を調べた。

## 2 実験方法

計測はいずれも恒温恒湿（温度38℃、湿度60%）の孵卵器内で行った。

### 2.1 孵卵前期のIHR計測

孵卵前期（3～10日令）の鶏胚のIHR計測は、電極間のインピーダンス変化を電圧の変動として検出するICGを用いて30分行った。卵には二本の針電極を卵殻から約7mm卵内に刺入し、接着剤で固定した（図1）。卵からの信号は、インピーダンスコンバータを介して生体用アンプで60～80dB増幅し、遮断周波数7Hzのローパスフィルタを通した後、A/D変換器によってサンプリング周波数50Hzでコンピュータに記録した。記録した波形はコンピュータで波形再現処理を行い、再現した波形のピーク間隔よりIHRを算出した（図2）。

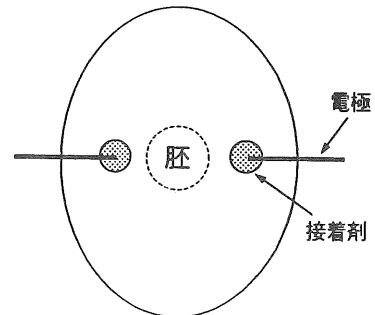


図1 ICG被計測卵

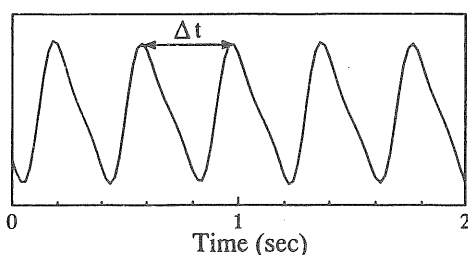


図2 ICG波形

$$(\text{瞬時心拍数}) = \frac{60}{\Delta t} \quad (\text{bpm : beats per minutes})$$

## 2. 2 孵卵前期の酸素濃度変化に対する IHR 応答

酸素濃度変化に対する IHR 応答の計測は、3~10 日令の卵についてコントロールとして空気中で 30 分計測した後、低濃度酸素 (10%) で 4 時間、または高濃度酸素 (100%) で 2 時間計測した。卵の外部環境の酸素濃度を変化させるために、卵をビニールチューブでガスボンベとつないだチャンバー内に置き、酸素を循環させながら計測を行った。

## 2. 3 孵卵終期の IHR 計測

孵卵終期 (17~21 日令) の胚の IHR 計測は、体動の影響を比較的受けにくい ECG を用いて 4 時間行った。ECG とは生体に発生する活動電位の変化を、電極により検出するものである。卵には三本の針電極を、刺入位置が一辺約 2cm の三角形の頂点になるように、卵殻から胚に接するまで刺入した後、接着剤で固定した (図 5)。この作業は、室温による卵の温度低下の心拍数への影響を避けるために、計測開始より約半日前に行った。卵からの信号は生体用アンプで約 60dB 増幅した後、バンド幅 50~120Hz のバンドパスフィルタを通し A/D 変換器のサンプリング周波数を 4000Hz としコンピュータに取り込み、あらかじめ設定したしきい値と波形の接点の間隔より IHR を算出し、その値を記録した (図 4)。

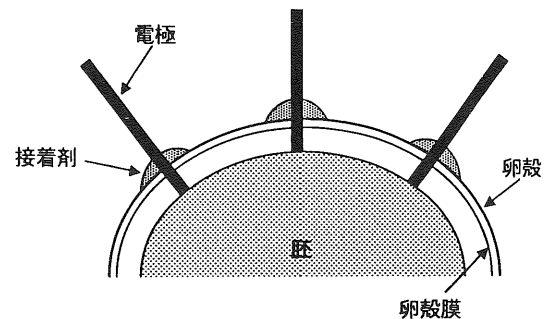
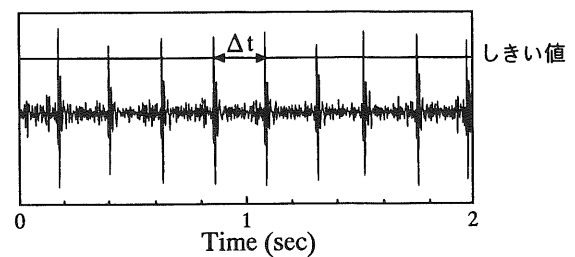


図 3 ECG 被計測卵



$$(\text{瞬時心拍数}) = \frac{60}{\Delta t} \quad (\text{bpm : beats per minutes})$$

図 4 ECG 波形

## 3 結果および考察

### 3. 1 孵卵前期の IHR 計測

3~8 日令は各 9~12 個、9 日令は 7 個、10 日令は 3 個のデータを得た。日令が進むに従い、胚の体動の影響により計測波形が乱れ、周期的な波形を得ることが困難になり、サンプル数が減少する結果になった。どの日令においても IHR に大きな変動は見られず平坦に推移している (図 5)。30 分間の平均心拍数は、3 日令で約 150bpm (beats per minutes) で、その後日令と共に上昇し 7 日令で約 240bpm になり、その後 10 日令まで大きな変化は見られない (図 6)。孵化に近い胚の平均心拍数は約 280bpm と報告されているので、7 日令の平均心拍数が約 240bpm であることから、心拍数は 3 日令から 7 日令の間に急激に増加してい

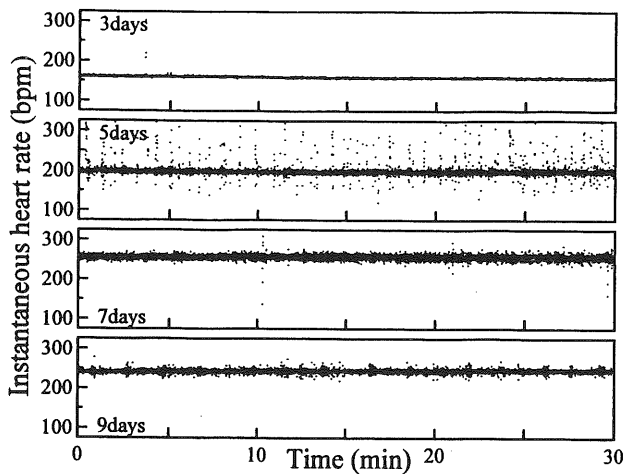


図5 孵卵前期のIHR

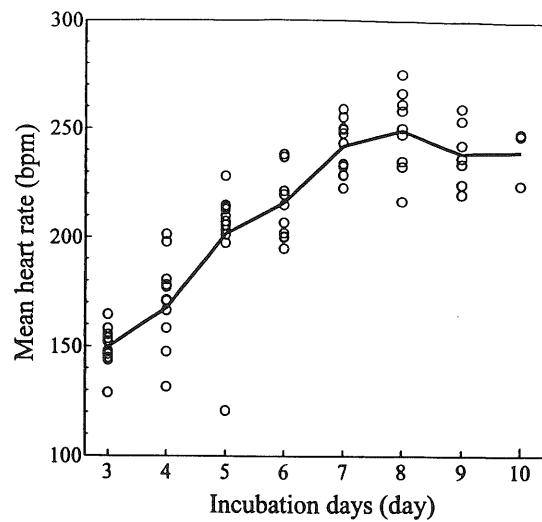


図6 平均心拍数の日令変化

るといえる。また、平均心拍数は3~6日令において日令と共に上昇するという結果を得たが、これは一本の管状だった心臓が、二心房二心室のほぼ完全な形に発達する時期にあたる。

### 3. 2 孵卵前期の酸素濃度変化に

#### 対するIHR応答

酸素濃度変化に対するIHR応答を、低濃度酸素では3~10日令の胚について3~9個、高濃度酸素では3~9日令の胚について2~4個の卵について計測した。低濃度酸素環境においては、3~6日令では急激に50bpmほどIHRが低下した後、低下したまま推移するもの(図7(a))やコントロール時の値まで回復するもの(図7(c))が見られ、多くの胚は計測終了時まで生存していた。これに対して7~10日令では全ての胚が1~3時間の間に死亡した(図7(e)(f))。計測不能になるまでの時間は、日令が進むに従い、短くなる傾向が見られた。低濃度酸素環境に対しては、体の各器官が未発達な時期と

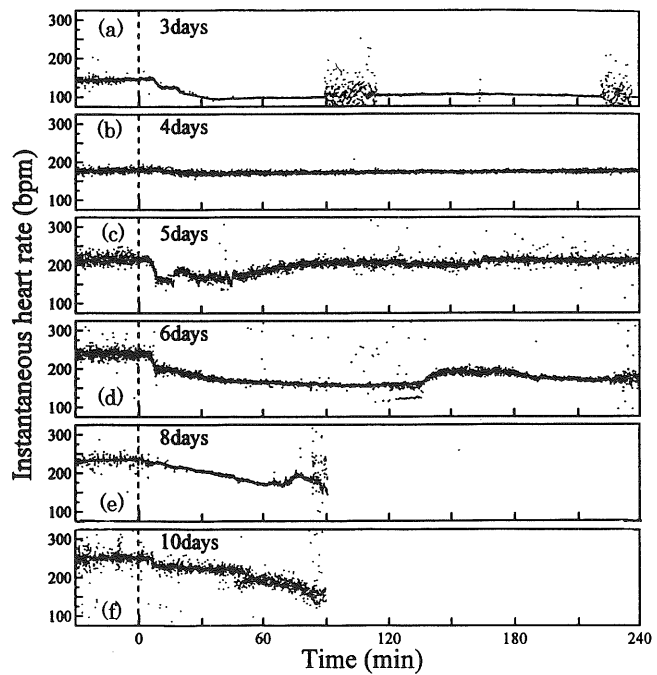


図7 低濃度酸素に対するIHR

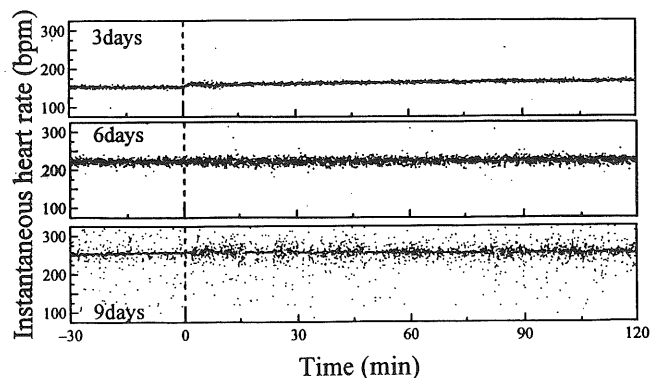


図8 高濃度酸素に対するIHR

考えられる3~6日令では多くの胚が生存し、7~10日令では全てが死亡するという差が現れた。高濃度酸素環境ではどの日令においてもIHRが上昇するなどの大きな変化は見られなかった(図8)。これにより胚の心臓は空気中で最も速く拍動していると言える。

### 3. 3 孵卵終期のIHR計測

17、18日令は各9個、19、20日令は各13個のデータを得た。19、20日令のIHR計測例は無かったため、他の日令よりも計測の回数を多くした。図9は17~20日令における30分間のIHRの推移である。計測した全日令にわたり、孵卵前期の胚では見られなかった、心拍数が一時的に急激に上昇する頻脈や、一時的に急激に低下する徐脈によるIHRの変動が絶えず起きている(図9)。徐脈や頻脈の多くは不規則に現れているが、徐脈が20秒ほどの周期で数分(図9(a)22~27分、(b)13~22分)、または1時間近く(図9(e))にわたり連続して現れるものや、4分ほどの周期で規則的に現れるもの(図9(d))も見られる。頻脈においても20秒ほどの周期で4、5分にわたり連続して現れるもの(図9(f)6~9、21~25分)がある。特に20日令では、徐脈が約1時間にわたって連続して現れたり(図9(e))、変動幅が100bpmを超える頻脈が連続して起こる(図9(f))など、それまでの日令にはない多様な変動が見られる。図10は、卵内の胚が卵殻を嘴で破るEP(external piping)時のデータの一つを、時間的に二段階に拡大したものである。この図より、それぞれの周期が約15分、20秒、0.8秒のIHRの周期的な変動が混在していることがわかる。上に挙げたEP時

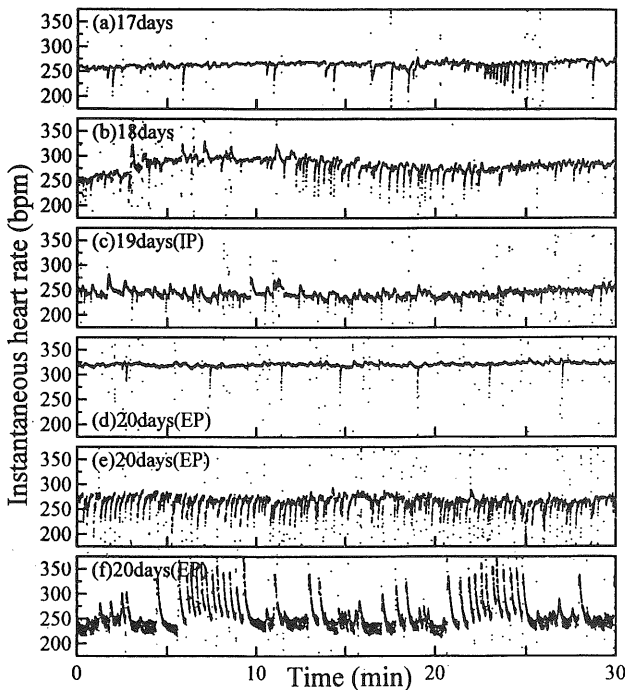


図9 孵卵終期のIHR

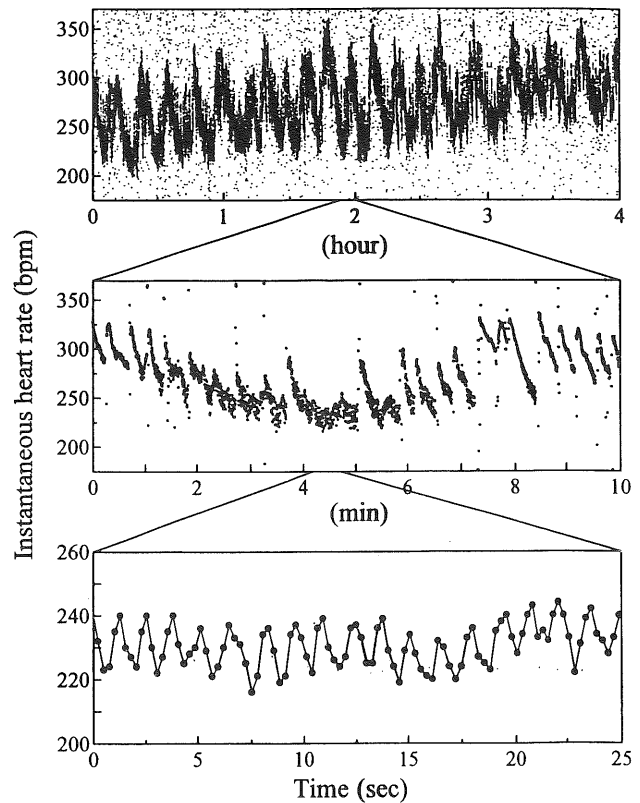


図10 EP時のIHR

に起こる IHR の多様な変動は、EP 時に、それまでの卵殻を通した絨毛尿膜による呼吸から、肺による呼吸に移り変わることに関連があると推測される。

#### 4 結語

本研究により、鶏胚において、体の各器官が未発達の状態にある孵卵初期の段階では、心拍数はほとんど変動せず、平坦に推移することを確認した。また、酸素濃度の変化に対して、低濃度酸素では心拍数が低下したり、死亡する等の影響を受けるものが多く、高濃度酸素では、心拍数は大きな影響を受けないことがわかった。孵化中の胚では、特にこれまで IHR の計測例が無かった 20 日令 (EP) の胚に興味深い多様な変動が見られたが、なぜこのように激しい変動が起こるのか解らない点が多くあるので更に研究を進める必要がある。また、今回の計測時間は 4 時間であり孵化中の期間全体から見るとほんの一部に過ぎないので、孵化中全体にわたって連続して計測を行うことが可能になれば、今回計測した個々のデータ間の関連性について新たな知見が得られると思われる。

#### 参考文献

- 1) 三林 光：初期および孵化中の胚における瞬時心拍数計測，  
室蘭工業大学大学院 電気電子工学専攻 修士学位論文，1998
- 2) 江原 義郎：ユーザーズ・デジタル信号処理，東京電機大学出版局
- 3) 中村 尚吾：ビギナーズ・デジタルフィルタ，東京電機大学出版局
- 4) 林 晴比古：新 C 言語入門，SOFT BANK 社