

リアリティーのある色調を保持した マウス全身のエポキシ樹脂標本作製

青島 拓也（浜松医科大学 光先端医学教育研究センター 医用動物資源支援部）

AOSHIMA Takuya: Attempts to prepare whole body epoxy resin specimens of mice retaining realistic color tones

In this study, I prepared whole-body epoxy resin specimens of mice. In the preparation of the specimens, I investigated the fixative solution and permeabilizing solution so that the color and size of the organs would closely resemble those of actual organs.

In fixative solution, there were no difference in shrinkage of the body size between paraformaldehyde fixative solution and 10% neutral formalin fixative solution, but paraformaldehyde fixative solution showed less fading color than 10% neutral formalin fixative solution. In the permeabilization solution, xylene and acetone caused the organs to darken or become transparent, whereas the curing solution showed the least change in color tone. In terms of curing temperature, at 55°C, the specimens cured so rapidly that a large amount of air bubbles were introduced into the specimens, whereas room temperature curing took longer to cure, but there were fewer air bubbles.

In conclusion, as a result of the preparation of whole-mouse epoxy resin specimens, it was considered that paraformaldehyde fixation, permeabilization with hardener B solution, and curing at room temperature were the most suitable for preparing specimens with good color tone and size.

1. 目的

生体の全身あるいは臓器を標本として保管し、肉眼的観察を行うためには、形態の保持はもちろんのこと、その色調や大きさの保持も重要な要素である。これらの標本としてはホルマリン標本が一般的であるが、ホルマリン標本は、長期間の保管で臓器が白濁化したり、臓器が収縮したりするため、採取時と大きさや色調が乖離してしまうデメリットがある。また、ホルマリンは揮発性で毒性が高いため、その標本の取扱いや保管には十分な注意が必要なものも欠点の一つとして挙げ

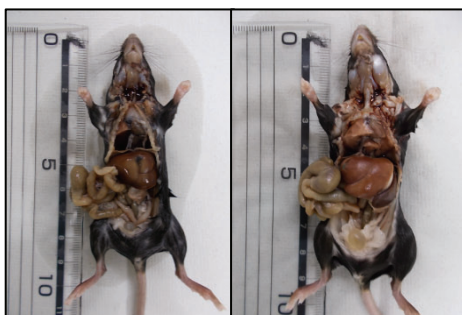


図 1：24 時間固定後のマウス標本。10% 中性緩衝ホルマリン液（左）、8%パラホルムアルデヒド溶液（右）：やや右の 8% パラホルムアルデヒド溶液の方が色調の保持が良好である。

られる。エポキシ樹脂は、分子中にエポキシ基を有する熱硬化性樹脂の総称であり、硬化剤と混合することで硬化し、透明度および硬度の高



図 2：透徹後のマウス標本。キシレン（左）、アセトン（中）、硬化剤 B 液（左）：硬化剤 B 液での透徹が最も色調の変化が少ない。

い固体となる。また耐水性、耐薬品性も高く、電気部品の封入材、接着剤、塗料等、様々な用途に利用されている。私はこれらの特徴から、エポキシ樹脂を用いて優れた生体の標本が作製できるのではないかと考えた。そこで今回、このエポキシ樹脂を用いてマウス全身の標本の作製を行った。作製にあたり、臓器の色調や大きさが実際の臓器に近くなるように固定液や透徹液等を検討した。

2. 方法

C57BL/B6 マウスをイソフルランの吸入過麻酔により安楽死させた後、開腹・開胸して各臓器・器官を露出させた。10%中性緩衝ホルマリン液または 8%パラホルムアルデヒド溶液にマウスを浸漬し一日固定し、

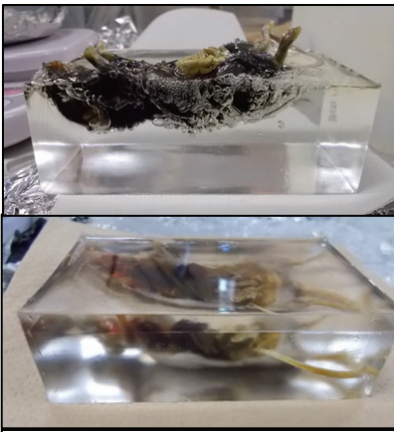


図 3 : エポキシ樹脂に包埋し硬化させた標本。55°Cでの硬化(左)、室温での硬化(下) : 55°Cでの硬化は多量の気泡が混入してしまうが、室温では混入が少ない。

その大きさや色調を観察した。その後、70%、95%、100%エタノールによる脱水(各2時間)を行い、キシレン、アセトンあるいはエポキシ樹脂硬化剤(B液)を用いて透徹(それぞれ2時間)を行った。硬化前のエポキシ樹脂と硬化剤を3:1の割合で混合し、真空ポン

プを用いて脱気した。そのエポキシ樹脂に透徹したマウスを入れて包埋し、室温あるいは55°Cのチャンバー内でエポキシ樹脂を硬化させた。完成したエポキシ樹脂標本をそれぞれ観察し、臓器の大きさや色調等を比較検討した。

3. 結果

10%中性ホルマリン固定液と8%パラホルムアルデヒド固定液との間に固定後の収縮率には大きな差はなかった。しかし、10%中性ホルマリン固定液では臓器が少し黒っぽくなってしまふのに対し、パラホルムアルデヒド固定液は若干臓器に赤みが残っており、色調の保持は良好であった(図1)。

透徹液の検討では、キシレン、アセトンは、透徹後、臓器の色調が黒～茶色へ大きく変化してしまったのに対し、硬化剤B液は色調の変化が少なかった。収縮率に大きな差は認められなかった(図2)。

硬化温度の検討では、55°Cでは急速にエポキシ樹脂が硬化してしまい、標本中に気泡が大量に混入してしまった。一方、室温の硬化では硬化までに時間はかかるが、気泡の混入は少なかった(図3)。

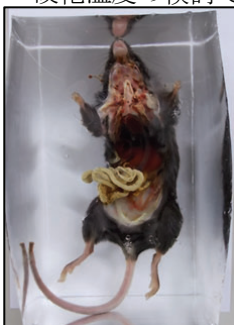


図4: 作製したエポキシ樹脂標本

4. まとめ

リアリティーのある色調を保持したマウス全身のエポキシ樹脂標本を作製するためには、8%パラホルムアルデヒド固定液で

の固定および硬化剤B液での透徹が適していると考えられた。また、エポキシ樹脂の硬化温度は室温が適していると考えられた(図4)。

作製したエポキシ樹脂標本は、以下のようなメリットがある。

① 直接標本に触れることができる。

エポキシ樹脂表標本は直接触ることが出来るので、自分の観察したい角度から標本を観察することが可能である(図5)。



図5: 作製したエポキシ樹脂標本: 直接手で触ることが出来るため、様々な角度から観察ができる。

② 実体顕微鏡下で観察ができる。

硬化したエポキシ樹脂は透明度が非常に高いため、実体顕微鏡下で、細かな部分の観察が可能である(図6)。

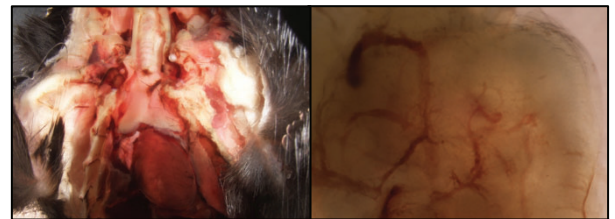


図6: 実体顕微鏡下で観察したエポキシ樹脂標本。マウス胸腔内(左)と胎児の頭部(右): 透明度が高いため、実体顕微鏡下での観察が可能。

③ 長期間の保管が可能。

色調を保持したまま長期間の保管が可能であるため、教材として保管しておけば、毎回解剖する必要がなくなるため、動物数の削減にも貢献できる。

④ 見た目のグロテスクさが軽減される。

原因は不明だが、ホルマリン標本よりも見た目のグロテスクさが軽減されている印象である。臓器を見るのが苦手な人や低年齢の人の教材に適している。