

LECTURES

カエル心臓八木式灌流法の研究 有用な学生実習のための改良

長崎国際大学薬学部生理学研究室

穎原 嗣尚, 坂元 駿, 浦川 勇哉

要 旨

伝統的な生理学実習項目の一つであるカエル心臓の八木式灌流実験法を改良し、心拍動をより定量的に観察記録できるようにした。すなわち、心室の収縮（縮小）・弛緩（拡大）を気圧変化に変換して捉える簡便な装置を考案し、圧変化を拍出量の指標として連続描記できるようにした。この方法により、前負荷または後負荷を増減させたときの心拍出量の変化などを明確にまた安定して観察描記することができる。この実習実験は、血液循環の安定化に大きく寄与する心臓の力学的特性を理解するために大変有用である。

キーワード：八木式灌流法、心拍出量、フランク・スターリング機構、前負荷、後負荷、拡張終期容積、収縮終期容積

1. はじめに

カエル心臓の八木式灌流標本 [1] が循環生理学に関する学生実習でよく用いられている。八木式灌流法は自動拍動している摘出心臓の大動脈から駆出される灌流液を再び静脈洞に返す実験法である（図1）。この標本は自己灌流する全心臓標本であり、長時間安定して自律拍動を続ける。これを用いれば心臓の拍動の様子を観察でき、心臓収縮の強弱を適当な方法で測定すればフランク・スターリング機構に関する初歩的な実験が可能である。また薬物の心臓作用や外液イオン組成変化の拍動に及ぼす影響を概観することもできる。しかしこの標本の心拍出量を連続的に測定記録することは試みられていない。そのような方法があれば、フランク・スターリング機構を前負荷の心拍出量に及ぼす影響として定量的に観察できるし、薬物効果や外液イオン効果も拍出量に及ぼす影響とし

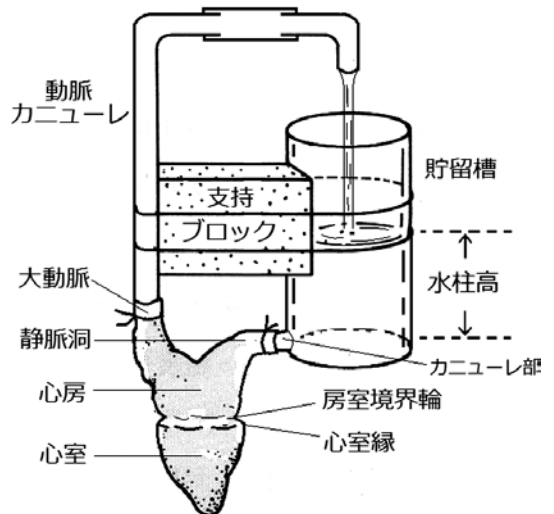


図1. ウシガエル心臓の八木式灌流法。

て捉えることができる。そこで今回灌流法を改良するとともに簡便な心拍出量の測定・記録法を考案したので紹介する。また、有用と思われる新しい実験項目についても合わせて述べる。

II. 改良の要点

①心室の収縮（縮小）・弛緩（拡大）を気圧変化に変換して捉え、拍出量を近似して連続描記する方法を考案した。その測定原理は次のようである。太いU字型ガラス管またはそれに類した連通管を垂直に立ててリンガー液を入れ、連通管一侧のリンガー液に標本の心室部を浸す。すると心室の拍出（心室の体積減少）にともなって両側連通管の液面が下降し、その下降の程度は拍出量が多いほど大である。標本の無い方の連通管の上部の空間を気密にしておくことと液面の上下にともなって空間内気圧が上下するので、それを圧センサーを用いて観察記録する。この標本槽を連通標本槽、連通管のうち標本を入れる方を主管、他方を側管とそれぞれ呼ぶことにする（図2, 4）。

②灌流装置（動脈カニューレと液貯留槽）については、貯留槽のカニューレ部を太くするとともに、これを貯留槽に水平に接続して前負荷を小さい値まで調節できるようにした（図1）。

III. 実験準備

III-A. 標本

大型のウシガエルを用いる。実験は長崎国際大学動物実験委員会の承認を受け、日本生理学会の動物実験指針に従って行った。八木式灌流標本の作成方法は成書[1]に詳しいのでここでは省略する。要するに、後大静脈—静脈洞に挿入された貯留槽カニューレと大動脈に挿入された動脈カニューレにより自己灌流する心臓標本を作る（図1）。もちろん洞・房に入るその他の静脈はすべて結紮切断されている。以下実験はすべて室温（20—22℃）で行った。

III-B. 実験装置

ここでは基本的な実験装置について説明する。実験目的によって必要になる器具・装置は後述する。図2に実験装置全体の模式図を示す。

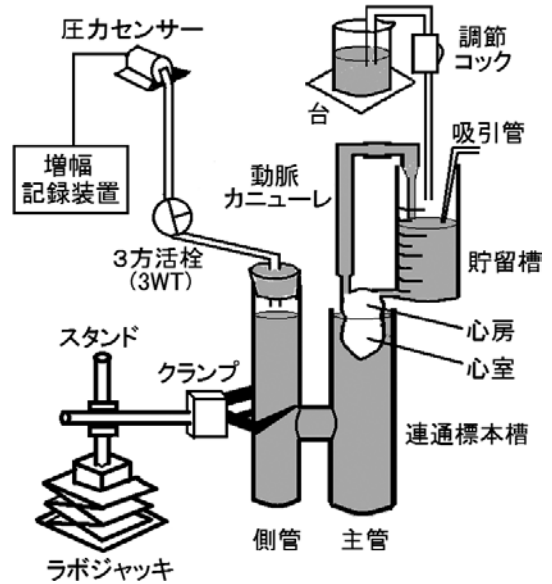


図2. 基本的な実験装置の模式図。ペンレコーダーおよび灌流装置を固定するクランプ等は省略。右上に示す灌流液供給・吸引装置は通常は用いない（図10参照）。そのほか詳細は本文に記載。

III-B-1. 連通標本槽

適当な太さと大きさのガラスU字管があれば理想的であるが、ここではディスポ注射筒を用いて作製した。主管として30ml用、側管として20ml用注射筒を利用し、両者の側面に穴をあけ、適当に切断した5ml用注射筒で両者を接続接着する（図2）。このとき側管が主管より約1cm上に突き出るようにする。注射筒先端部はふさぐ。ディスポ注射筒の加工には細い半田ゴテを使うのが便利である。側管の蓋に用いるシリコン栓（5号）に穴をあけてチューブをつなぎ、チューブの他端を三方活栓（3WT）を介して圧力センサーにつなぐ。なお、心臓が非常に大きいときのために50ml用注射筒を主管にしたものを準備しておくとい。

III-B-2. 貯留槽

この標本では貯留槽のカニューレ部を後大静脈—静脈洞に挿入し心臓を吊り下げる（図1、心臓右側は動脈カニューレで支えられる）。これまでの貯留槽、たとえば夏目製作所（東京）製のものではカニューレ部が下方または斜め下方を向いてい

る。このため、これを用いるとカニューレ・貯留槽接合部と心室との高低差は静脈洞・心房を挟んで約2cmとなる。この状況はフランク・スターリング機構の観察に良いとはいえない。心室前負荷を2cm H₂O以下にすることができないからである。カニューレ部が水平であれば上記高低差を約1cmに縮められる。また、カニューレ部の先端は十分太い必要がある。細いと液還流への抵抗を形成して槽内静水圧の前負荷としての効果を減殺してしまう。そこで太いカニューレが水平についた貯留槽を作製した。なお、夏目製作所製貯留槽のカニューレ部先端（内径約1.3mm）は細い。

貯留槽槽部の材料は約6cmの長さに切って先端部をふさいだディスポ20ml用注射筒である。カニューレ部（長さ18mm）の材料は外径約3.4mm、内径約2.4mmのガラス管（自作するならばツールピペットの幹部を熱して細くするとよい）で、これにヤスリで斜めの切断面をつけ、他端を槽部下部の壁に水平に接続接着する。貯留槽側面縦方向に長さ目盛紙を張り付けておく。

III-B-3. 動脈カニューレ

貯留槽のカニューレ部を水平にしたために心臓と貯留槽との水平距離が広がったので、動脈カニューレの屈曲をこれに合わせる必要がある。筆者らは夏目製作所製カニューレの水平部を切断し、断端どうしを連結チューブでつないで水平部を延長している（図1）。

III-B-4. 圧測定・記録装置

圧力センサーとしては医療用ディスポ血压トランスデューサー（DX-360, 日本ベクトン・ディッキンソン製, 日本光電販売）が使いやすい。増幅器として筆者らが使っているのは日本光電製のひずみ・圧力用アンプ（AP-610JまたはAP-621G）である。アンプ出力をペンレコーダーにつなげば記録装置の完成である。アンプは最大感度で使用し、その出力はDX-360との組み合わせにおいて100mV/0.4mmHgである。ペンレコーダーの使用でこの実験の目的は十分に達成できる。もちろんデータ収録・処理装置とPCのセットを用いれば大変便利である。筆者らはPowerLab system（ADInstruments, Australia）を組み込み、データを

収録・保存して解析・作図に役立っている。

IV. 基本的な実験操作と注意点

実験系を図2に示すようにセットする。完成した八木式灌流装置の支持ブロック部（図1）を小型クランプではさんでスタンドに固定する。連通標本槽もまた小型クランプではさんで独立したスタンドに固定し、そのスタンドをラボジャッキの上に置く。このとき主管が標本の直下に来るようにする。連通標本槽にリンガー液を、その液面が主管の上縁から約5mm下になるように入れる。側管に上記のシリコン栓で蓋をし（3WTは開放）、ラボジャッキ操作により標本槽を上にあげて標本の心室部を主管のリンガー液に浸す。すると心室の拍動にもなって主管と側管の液面が上下するのを確認できる。ラボジャッキを微調整して、心室拡張終期における主管内の標本周囲液面を房室境界輪直下の心室最大直径部（心室縁, 図1）の高さにできるだけ一致させる。心室縁の断面が水平であるのが理想的であるが、水平でないときは動脈カニューレを上下することによってある程度補正できる。心臓が大きいと心室の一部が主管の壁に接触してしまうが、これは圧記録上ほとんど問題にならない。

貯留槽のカニューレ接合部から内部リンガー液の液面までの水柱の高さを水柱高と呼ぶ（図1）。心室を標本槽に浸した後、水柱高（貯留槽に張り付けた目盛紙で読み取る）を約1cmにして貯留槽内の液面の動きを観察する。心周期中、液面は液の心臓内への還流時に下がり、心室の液拍出（動脈カニューレからの液流入）時に上がる。液面がもっとも下がったとき（心室拡張終期）の水柱高（極小水柱高）が有効な前負荷であるので、これを制御・記録すべきパラメーターにする。以後この稿では水柱高とは極小水柱高を指す。駒込ピペットを用いて水柱高を任意に設定する。3WTを閉じれば圧出力を記録できる（図3）。

測定原理について図4を使って補足する。心室収縮にもなって主管内の標本周囲液面は拡張終期水位（拡張位）から収縮終期水位（収縮位）まで下がる。このとき、3WTが閉鎖中であると側管

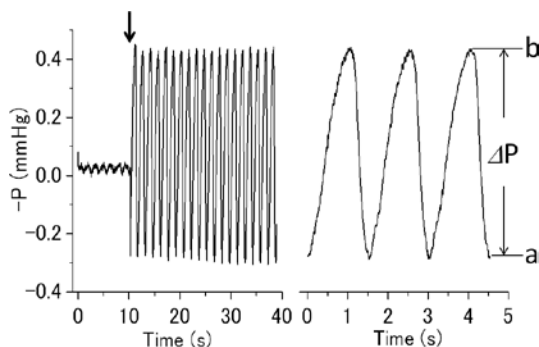


図3. 心室収縮・拡張にともなう圧変化 ($-P$) の測定. アンプ出力の正負を反転して記録している. 左は遅いチャート記録. 右は速い記録. 左の矢印の時点で3WTを閉鎖した. 圧波形の底値(a)とピーク値(b)はそれぞれ心室拡張終期容積(EDV)と収縮終期容積(ESV)を反映する圧レベルで, 両者の差(圧振幅)を ΔP で示す. 水柱高, 1cm.

内リンガー液の水位が視認はできないがわずかに下がる. わずかである理由は側管上部空間の空気容量が数 ml にすぎないからである. このことは, たとえば 5ml の空気の気圧が 1mmHg 変動するのに要する容積変化はたかだか $5 \times 1/760$ ml であることから理解できる. したがって, 測定している気圧変化は主管内の液の拡張位と収縮位の静水圧差にはほぼ等しいと考えてよい. 測定気圧は心室収縮期に下がるので, それをそのままペンレコーダーに記録すると心室収縮が下向きに振れる. そこでアンプ出力の正負を反転させて記録するとよい. この稿中の図ではすべてそのように出力を反転させている.

ここで重要な点を述べると, この測定法は心拍出にともなう心室の体積変化を近似しようとするものであって, 測定される心周期中の圧変化は心室内腔の容積変化(心拍出量)を正確に反映するものではない. しかしこの実習実験では, 近似される心室の体積を心室内腔容積として扱い, 心周期中の心室体積の減少を心拍出量とみなすことにする.

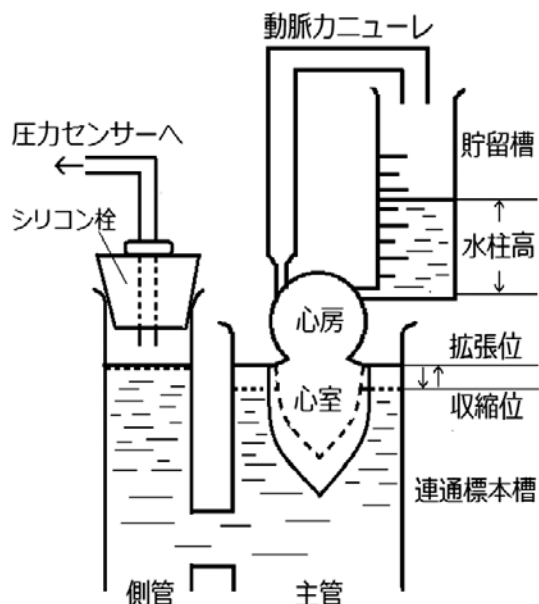


図4. 心室の収縮・拡張を圧変化として捉える装置. 標本槽下部は省略. 心室輪郭の実線と破線はそれぞれ心室拡張終期と収縮終期の輪郭である. 両者に対応する標本槽内水位を実線(拡張位)と破線(収縮位)で示す. 詳細は本文に記載.

V. 実験

V-A. 心室体積の測定と拍出量・圧関係の較正

乾燥した小型ペトリ皿を数枚用意し, 貯留槽水柱高を 1cm に調整しておく. 図5に実験例を示す. 標本槽を下げ主管から標本を抜いた状態で圧記録を開始する(基線記録, 図5中の a). つぎに 1ml 用注射器を用いて正確に 1ml のリンガー液を主管に注ぎ, そして同量抜き取る. このときの圧レベルシフトが記録される(1ml 記録, b). 続いて標本槽を上にあげて心室を主管に浸し, 心室拡張終期の標本周囲液面を心室縁に一致させる. 圧記録において, b と a の差 (P_1) は標本槽内液 1ml 増に対応し, c (心室拡張終期の圧レベル) と a の差 (P_v) は心室体積を反映するので, P_v/P_1 (ml) は心室拡張終期容積(EDV)の概算値となる.

ペトリ皿を用いて動脈カニューレ端から放出される 1 回拍出量 (SV) を汲み受ける. 汲み受けると貯留槽内水柱高がその分減少するので, ただちに駒込ピペットで液を補充して水柱高を 1cm に

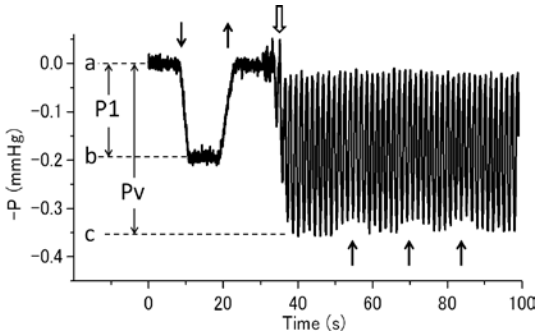


図5. 心室体積の測定と一回心拍出量 (SV) の実測. まず水柱高を1cmに調整し, 標本槽に標本を浸していない状態で圧記録を開始した. 左上の一对の矢印の時点で標本槽にリンガー液1mlの注入と除去を行い, 続いて白抜き矢印の時点でラボジャッキ操作により心室を標本槽主管に浸した. 右下の矢印の時点で動脈カニューレ端から放出される1回拍出量 (SV) をペトリ皿に汲み受け, その後ただちに別の液を貯留槽に補充して水柱高を1cmに戻した. これを3回繰り返している. Pv/P1比, すなわちEDVは1.77mlで, SVは平均1.06mlであった. ΔP は平均0.35mmHgであり, したがってSV/ ΔP 比は3.03ml/mmHgとなる. 詳細は本文に記載.

戻す. 別のペトリ皿を用いつつ同様な操作を計3回行う (図5). 天秤でSVの重量をそれぞれ測定し平均値を出す. 液の比重を1とみなせば重量は水柱高1cm時のSVである. 測定したSVと記録された心室拍出にともなう圧変化振幅 (ΔP) との比, SV/ ΔP (ml/mmHg), はこの標本における今後の圧記録において ΔP からおよそそのSVを求めるときの較正值になる. SV/EDV比は駆出率 (EF) の概算値である. なお, この実験でSVを汲み受けたときEDVと ΔP が減少するのが観察される (図5). これは水柱高のわずかな減少 (前負荷の減少) がEDVと ΔP に影響したためであり, この点を次項で詳しく調べる.

V-B. SVに及ぼす前負荷の影響

圧記録を続けながら駒込ピペットを使って貯留槽の水柱高 (前負荷) をさまざまなレベルに変えてみる. 図6に実験例を示す. ここでは水柱高を始めに0.8cmから0cmまで, 次に0cmから4cm

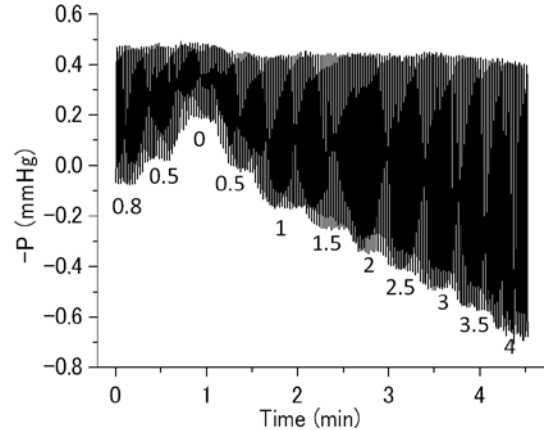


図6. 前負荷増減にともなう圧出力 (-P) 変化の連続記録. はじめ水柱高を0.8cmから0.5cmへ, さらに0cmまで減らし, 続いて0から4cmまで0.5cmステップで増加させている. トレースの下の各数字は対応する水柱高 (cm) である.

まで, 段階的に変えている. この操作によってEDVがステップ状に増減し, これに従い ΔP がステップ状に変化するのが観察される. 前負荷が増加 (減少) するとSVが増加 (減少) して再び還流量と拍出量が等しくなり, 新しい平衡状態で安定するというフランク・スターリング機構を表す重要な所見である. この際, 圧記録のピークレベル, すなわち心室収縮終期容積 (ESV) はほとんど変化しないという心臓の力学的特性も確認される. ΔP は一般に水柱高が3cmを超えてもさらに単調に増加するように記録されるが, これがSVの増加を示すものかどうかは検証を要する (次項参照).

V-C. SV/ ΔP 関係の特性

図5右に示したような圧記録中のSV採取を種々の水柱高で行い, 各水柱高でSVと ΔP を対比させた. 実験例を図7に示す. すべての標本 ($n = 6$) でSVは水柱高2.5—3cmで最大値に達し, それ以上の水柱高ではSVは不変であるかまたは減少した. これに対し ΔP は水柱高3cm以上でもさらに増加した. つまりSVと ΔP は3cm以上の水柱高では相関しないようであった (図7). そこでSV/ ΔP 比と水柱高の関係を詳細に検討した.

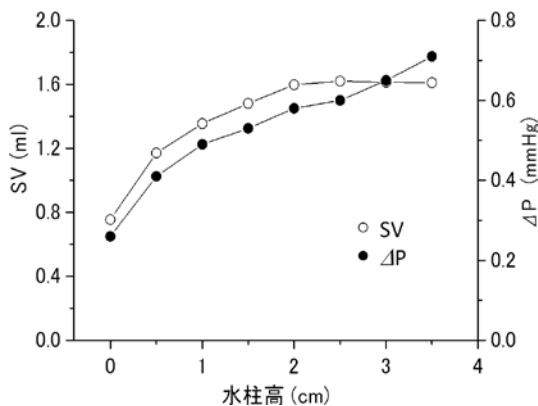


図7. SV および ΔP と水柱高との関係調べた実験の1例. 水柱高を0から4cmまで0.5cmステップで増加させながら各水柱高で ΔP を記録するとともにSVを測定した.

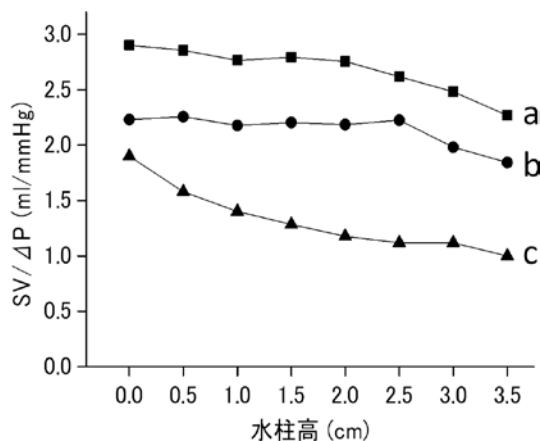


図8. $SV/\Delta P$ 比と水柱高との関係. 図7に示すような実験を数例行い, 各実験において各水柱高で $SV/\Delta P$ 比を求めた. そのうちの3例の結果(曲線 a, b と c) を示す. 曲線 a は図7に示す実験に由来する.

図8のグラフは各水柱高における $SV/\Delta P$ 比を3個の標本についてプロットしたものである. グラフ中の曲線 b のように, 0cm から 2.5cm までの水柱高範囲でほぼ一定の $SV/\Delta P$ 比を示す実験例が1例あったが, 他の例では $SV/\Delta P$ 比は水柱高増加とともに多かれ少なかれ減少した (a と c). つまり ΔP は水柱高が高くなるにつれて SV に比して過大に増加する傾向を示した. この過大な増加の要因は, 水柱高増加で EDV が増加すると心底部断面積も増えてその分主槽内液面の面積が減ること, また主槽内液面が上方にシフトしていくことである. SV が増加しない 3cm 以上の水柱高でも ΔP の増加がみられたが (図6と7), これも同様の理由による. とくに, 高い水柱高では主槽内液面が房室境界輪を超えて心房下部まで上昇しており, 心房容積が液面レベルに影響するようである.

結論として, 2.5—3cm 以下の水柱高範囲で ΔP と SV は並行して増減するが, 両者は必ずしも比例しないと言える. 水柱高が大きく変わる実験 (たとえば図6) ではこのことに留意する必要がある. にもかかわらず, 通常の実験では ΔP は SV の指標として十分利用できるであろう. SV は水柱高 2.5—3cm で最大値に達したが (図7), 心室が貯留槽カニューレから約 1cm 下方に位置することを

考慮すると, SV を増やせる心室前負荷の限界は 3.5—4cm H_2O ということになる. なお, ウシガエル心房に対する前負荷限界は水柱高 2.5—3cm である [2] ことを付記する.

V-D. EDV と心周期との関連

これまでの実験で SV は EDV に強く依存し, EDV は前負荷に依存することを確認できた. ここでは心周期も EDV 決定に関与していることを観察する. 心拍頻度が温度に依存することを利用し, 心周期を一過性に延長または短縮するために, 冷却または加温したリンガー液を含ませた小綿片を 10—20 秒間標本の静脈洞 (図1参照) の上に置いてみる. この方法では静脈洞の一部の表面のみが冷却または加温されるのであるが, ある程度の効果発現が期待される.

図9に実験例を示す. 図9Aでは冷たい (約5°C) 綿片を置いている. この処置により期待どおり心周期の延長 (心拍数減少) が起こっている. 注目されることは心周期の延長にともなって EDV が増加していることである. 心房・心室は冷やされていないのでこの EDV 変化は心周期延長のみに起因する. この所見は, 通常的心周期では拡張期において心室弛緩がまだ十分ではない (前負荷と

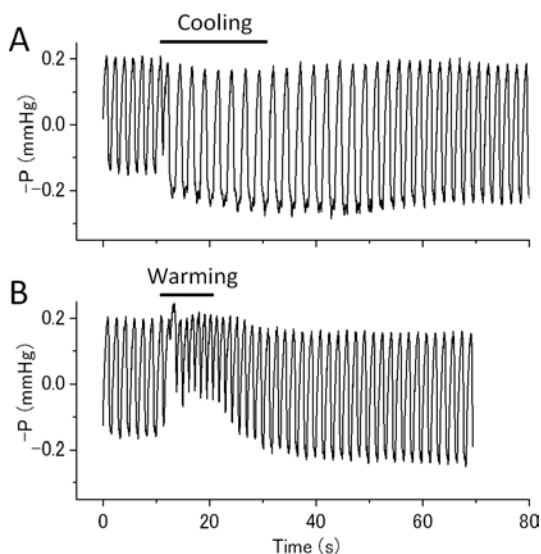


図9. 心拍頻度増減の心室拍動動態に及ぼす効果。約5℃ (A) または約30℃ (B) のリンガー液を含ませた小綿片を標本の静脈洞の上に置いた。各記録の上のバーは綿片を置いていた時間を示す。冷却による拍動数減少とともにEDVと ΔP が増加すること、加温による拍動数増加は逆にEDVと ΔP を減少させることがわかる。水柱高, 1cm。

の平衡に達しない) うちに次の収縮が起こるといふ重要な心室拍動の特性を示す。このことから通常心室は拡張予備能を保ちつつ拍動していることがわかる。また、心周期延長後の ΔP は延長前のそれより大きい、すなわちSVが増加していることも観察される(図9A)。一過性または持続性の病的徐脈においてSVが増加することは実験的にも臨床的にも知られていることである。

いっぽう図9Bでは温かい(約30℃)綿片を置いている。心周期の短縮(心拍数増加)が起こり、心室が十分に弛緩しない(EDV減少)まま拍動している。必然的に ΔP 、したがってSVも小さくなっていることが観察されるが、これは臨床において上室性頻拍やリエントリー性心室頻拍がSV低下・循環不全をしばしば惹起することと関連する。このように心周期もEDVレベルとSVを決定する重要な要素であることが図9の実験をとおして確認される。

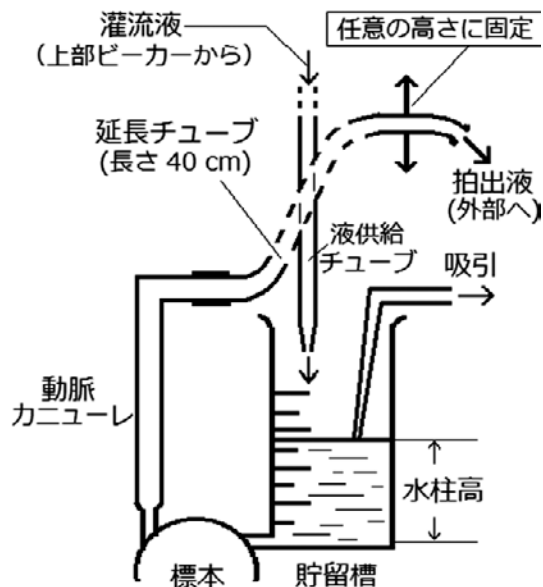


図10. 標本に対する後負荷を増加させる装置。標本の心房より下部は省略。詳細は本文に記載。

V-E. 心室拍動に及ぼす後負荷の影響

前項の実験で観察した心室の拡張予備能は、フランク・スターリング機構のもう一つの側面、すなわちSVは後負荷の増減に影響されない [3, 4] という心拍動の特性において重要な役割を果たしている。以下の実験は装置・操作がやや複雑で学生実習には適さないかもしれないが、八木式灌流実験においても後負荷増加の心拍動に及ぼす影響をみごとに観察できることをここで紹介したい。

この実験系で後負荷は動脈カニューレ内液の静水圧なので、後負荷を増やすにはこの静水圧を増やす工夫をすればよい。そのための新しい灌流装置を図10に示す。動脈カニューレ開口部に長さ約40cmのチューブ(延長チューブ)をつなぎ、その先端を適当なクランプとスタンドを用いて任意の高さに固定できるようにする。この場合拍出液はチューブ先端から貯留槽外に放出される(下に置いたビーカー内に落ちるので、外部から灌流液を貯留槽に供給する。そのため貯留槽から約50cm高い台にビーカーを置き、中の灌流液をチューブをとおして一定流速で貯留槽に流す(図2参照)。流速調整はチューブ途中の調節コックにより行

う。さらに、水流ポンプにつないだ細いチューブを吸引管として貯留槽内に挿入し、吸引によって安定した水柱高を保持できるようにする。

実験では、自己灌流中の標本の動脈カニューレ開口部に延長チューブをつなぎ、その先端を前者とほぼ同じ高さにセットする。調節コックを緩めて灌流液を貯留槽に導くとともに吸引を開始する。水柱高が1cm前後の値で安定するように灌流液流量と吸引チューブ先端の高さを調整する。安定したら圧記録を開始する。このときの後負荷は通常の動脈カニューレ由来の後負荷(7cmH₂O)と同等である。次に延長チューブ先端の高さ(先端高)を高くセットして後負荷を増やしてみる。

実験例を図11に示す。ここでは先端高を10および20cm増加させている。これにより後負荷は7cmH₂Oから17および27cmH₂Oに増える。この操作により当然心室収縮が制限される(ESVの増大)が、EDVも増加するので ΔP したがってSVは後負荷増加前とほとんど同じレベルで安定することが観察される。前負荷(水柱高)は一定なのでEDVの増加は別の要因による。後負荷増加により収縮が不十分になった心室はそれだけ拡張期に大きく拡張できるのである。以上の実験から、SVは後負荷増加にほとんど影響されないこと、そしてこれは心室が拡張するためであることがわかる。これらの所見は血圧が変動している人の、さらには高血圧症の人の心拍動動態に関連する。

VI. おわりに

カエル心臓の八木式灌流法は心臓に関する学生実習の標準的題目の一つである。今回実験法を改良し心室拍出量の指標を連続して記録描記できるようにした。厳密には、記録される ΔP はSVを直接に反映するものではなくSVを近似する指標であること(図4)、 ΔP とSVは必ずしも比例しないこと(図8)などの測定法上の限界もあるが、この方法は学生実習においてSVをおおまかに連続描記する簡便な方法として十分有用である。今回貯留槽を改良したが、従来型の貯留槽を持つ灌流装置と今回の連通標本槽による圧測定法とを組み合わせることはもちろん可能である。ただ、貯

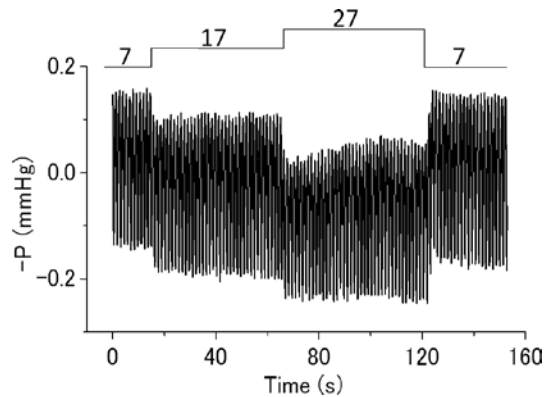


図11. 後負荷の増加に対する心室拍動の適応. トレースの上の数字は後負荷の値(cmH₂O)を示す. 後負荷が増大すると心室収縮量は制限される(圧ピーク値の減少)が、EDVがすばやく増加して ΔP (SV)を維持している. 水柱高, 1cm.

留槽カニューレが細くて還流抵抗を生じるとSV・水柱高関係(図7)が右方にシフトすることに留意しなければならない。

実験準備、実験操作法については詳細かつ具体的に記述するよう努めた。この実習を準備・実施する際に参考になれば幸いである。さらに心臓の力学的性質に関する実験について詳しく解説した。すなわち、この方法により前負荷(図6)または後負荷(図11)を増減させたときの心拍出量の変化や、心拍数増減の心室動態に及ぼす影響(図9)などを明確にまた安定して観察描記することができる。これらの実験を行うと、約100年前にスターリングら[3,4]がイヌの心肺標本を用いて得た重要な所見をカエル心臓で再現できることに感嘆させられる。この意味で八木式灌流標本はすばらしい心臓標本である。他方、この標本の実習ではイオンや薬物の心臓作用を調べることも重要である。それらに関する実験項目についてはすでに成書[1]に詳しいのでこの稿では省略したが、そのような実験では外部灌流法(図10)が有用であることを付記する。なお、今回はSV/ ΔP 比の特性を検討する必要があったが(図7と8)、学生実習ではその検討は不要であろう。

この実習は血液循環の安定化に大きく寄与する

心臓の力学的特性を理解するため、さらにはイオンや薬物の心臓作用を観察するために大変有用であり、学生に大きなインパクトを与えうる実験である。

文 献

1. 栗原 敏：新・生理学実習書，日本生理学会編，南江堂，東京， pp45-48, 1991
2. 穎原嗣尚，八頭司正稔：ウシガエル反転洞房標本を用いた心機能実験の改良—有用な生理学実習項目の存続へむけて—。日生誌 73: 262-267, 2011
3. Patterson SW & Starling EH: On the mechanical factors which determine the output of the ventricles. J Physiol 48: 357-379, 1914
4. Patterson SW, Piper H & Starling EH: The regulation of the heart beat. J Physiol 48: 465-513, 1914