

マウスにおける3種混合注射麻酔薬による

低体温および高血糖を防ぐための

安全な麻酔調整法の確立

**(Establishment of safe anesthesia method for preventing**

**hypothermia and hyperglycemia induced by**

**medetomidine-midazolam-butorphanol in mice)**

学位論文の内容の要約

日本獣医生命科学大学大学院獣医生命科学研究科

応用生命科学専攻博士後期課程平成31年入学

田代 瑞穂

(指導教授：藤平 篤志)

現在、実験動物のマウスにおける外科的処置の注射麻酔薬として、メドトミジン (Me)、ミダゾラム (Mi) およびブトルファノール (Bu) の3剤を混合した3種混合注射麻酔薬 (MMB) が使用されている。しかしながら、MMB の副作用として、体温低下や血糖値の上昇が報告されている。麻酔後の保温処置の必要性が認知されている一方で、保温処置は覚醒するまでの1時間程度に限定されることが多く、MMB による体温低下を緩和するための具体的な処置に関しては未だ報告されていない。また、血糖値を測定するような実験系では、これまではペントバルビタール (Pent) が使用されてきた。しかしながら、医薬品グレードの Pent が終売されたことを受けてセコバルビタール (Seco) が現在、注目されている。そこで本研究では、はじめに①MMB の体温低下作用を吸入麻酔薬であるイソフルラン (ISO) と比較した。加えて、MMB 各薬剤投与後の体温をそれぞれ保温無処置下で比較した (第3章)。次に、②MMB 投与後の保温処置時間、体温低下の緩和に配慮した拮抗薬であるアチパメゾール (Ati) 投与量および MMB の構成薬剤比率に関して比較、検討した (第4章)。最後に、③Seco 注射麻酔薬投与後の血糖値、麻酔スコアおよび体温の3点に関して、MMB との比較を行った (第5章)。

本研究において、成熟雄性 ICR 系マウスを9週齢から実験に使用した。なお、本研究は、本学の学内規程に基づき承認を得て行われている (承認番号: 28S-62, 29K-25, 30K-26, 2019K-14, 2020K-39, 2021K-49)。体温測定には、予めマウスの腹腔内に外科的に移植した体内埋め込み式体温測定装置を使用した。また、体温データに関して、麻酔の影響がない実験前日 24 時間 (07:00 から翌 07:00 まで) の最低体温を平常時体温 ( $T_{pre}$ )、実験当日の麻酔薬剤投与から7時間までの最低体温を投与後体温 ( $T_{post}$ ) と定義し、 $T_{pre}$  と  $T_{post}$  を比較した。そして、体温低下の判断基準に関して、 $T_{post}$  が  $T_{pre}$  を下回った場合を、体温が低下したと判断した。さらに、保温処置終了もしくは覚醒処置から  $T_{pre}$  と同じ値に回復するのに要した時間を平常時体温回復時間と定義した。

### ① MMB による体温低下とその原因薬剤の特定 (第3章)

本章では、MMB による体温低下の特徴とその原因に関して調査するため、はじめに MMB および ISO 投与後の体温低下作用を比較した。次に MMB 各薬剤 (Me, Mi, Bu) 投与後の体温をそれぞれ保温無処置下で比較した。その結果、両群 (MMB 群および ISO 群) の  $T_{\text{post}}$  の値は  $T_{\text{pre}}$  と比較して有意に低下した ( $p < 0.01$ )。また、各群の  $T_{\text{post}}$  の比較において、MMB 群の  $T_{\text{post}}$  は、ISO 群よりも有意に低下した ( $p < 0.01$ )。各群の平常時体温回復時間の比較において、MMB 群の平常時体温回復時間は、ISO 群と比較して、有意に遅延した ( $p < 0.01$ )。MMB 各薬剤投与後の  $T_{\text{post}}$  の比較において、Me 群でのみ他の群 (Mi 群, Bu 群, Mi/Bu 群) と比較して有意に低い値を示した ( $p < 0.01$ )。一方、Mi 群、Bu 群および Mi/Bu 群では、有意な体温の低下は認められなかった。

## ② MMB による体温低下を緩和するための処置条件の確立 (第 4 章)

本章では、MMB による体温低下を緩和するための処置条件の確立を目的とし、MMB 投与後の具体的な保温処置時間、体温低下の緩和に配慮した Ati 投与量および MMB の構成薬剤比率について比較、検討した。結果として、MMB 投与後の具体的な保温処置時間に関して、MMB 各保温処置時間群のうち MMB-1,2hr 群の体温は保温処置終了後に平常時体温の範囲を超えて有意に低下したが ( $p < 0.05$ )、MMB-3,5hr 群では体温の変動は平常時体温の範囲内であった。そこで、MMB-3,5hr 群において個体ごとの体温低下頻度を比較したところ、MMB-3hr 群では全 16 匹中 7 匹で体温が低下した個体が有意に観察されたのに対し、MMB-5hr 群では体温が低下した個体は皆無であった ( $p < 0.05$ )。体温低下の緩和に配慮した Ati 投与量に関して、各用量の Ati 投与 (Ati 0.3, 0.6, 1.2, 2.4 mg/kg i.p.) は、用量依存的に MMB による体温低下を緩和した。各群の  $T_{\text{pre}}$  と  $T_{\text{post}}$  の比較において、Ati 0.3, 0.6 mg/kg 群では有意に低い  $T_{\text{post}}$  の値を示した ( $p < 0.05$ )。一方、高用量の Ati 1.2, 2.4 mg/kg 群では  $T_{\text{pre}}$  と  $T_{\text{post}}$  に有意な差は認められなかった。また、Ati 投与による覚醒処置からの平常時体温回復時間においても、Ati 用量依存的に短縮し、特に Ati 1.2 mg/kg 以上では従来用量である Ati 0.3 mg/kg と比較して平常時体温回復時間が有意に短縮した ( $p < 0.05$ )。しかしながら、高用量の Ati 投与後の肝酵素を中心に評価したところ、

Ati 投与 1 時間後の血漿中 CPK および AST 濃度は、Saline 群と比較して Ati 1.2 mg/kg 群で有意に低下し ( $p < 0.01$ )、肝機能に軽微な変化が観察された。MMB 構成薬剤比率に関して、麻酔スコアの評価を行ったところ、新たに調整した 4 用量の MMB (Me/Mi/Bu=0.15/6.0/7.5, 0.15/6.0/10, 0.2/0.6/7.5, 0.2/6.0/10 mg/kg) の中で、MMB 0.2/6.0/10 mg/kg の投与は、先に報告されている従来用量 (Me/Mi/Bu=0.3/4.0/5.0, 0.3/6.0/7.5 mg/kg) と遜色なく、投与後 10 分から 40 分まで外科的処置が可能な麻酔スコアを維持した。さらに、各 MMB 群 (0.3/4.0/5.0 mg/kg 群および 0.2/6.0/10 mg/kg 群) における  $T_{pre}$  と 2 時間の保温処置終了後の  $T_{post}$  を比較したところ、従来用量である 0.3/4.0/5.0 mg/kg 群では、 $T_{post}$  は  $T_{pre}$  と比較して有意に低下した ( $p < 0.05$ )。一方、新用量である 0.2/6.0/10 mg/kg 群の  $T_{post}$  と  $T_{pre}$  の比較では、同条件の保温で有意差は消失した。また、従来用量である 0.3/4.0/5.0 mg/kg 群と比較して、新用量である 0.2/6.0/10 mg/kg 群の覚醒処置後の平常時体温回復時間は有意に短縮し ( $p < 0.01$ )、MMB による体温低下作用が劇的に緩和された。

### ③ 血糖値変動を視点とした Seco 注射麻酔条件の確立 (第 5 章)

本章では、マウスの血糖値、麻酔スコアおよび体温の 3 点に関して、Seco の注射麻酔薬としての有用性を MMB と比較し、検討した。その結果、各麻酔薬 (Saline, MMB 0.3/4.0/5.0, 0.2/6.0/10 mg/kg, Seco 75 mg/kg, Pent 75 mg/kg) 投与 15 分後の血糖値の比較では、各 MMB 群の血糖値は、Saline 群と比較して有意に上昇した ( $p < 0.01$ )。また、血糖値については従来用量である MMB 0.3/4.0/5.0 mg/kg 群と新用量の 0.2/6.0/10 mg/kg 群との間に有意差は認められなかった。Pent 群および Seco 群の血糖値は、Saline 群と比較して有意差は認められなかった。Seco 注射麻酔薬投与量の検討をする際に、各麻酔薬 (Pent, Seco, SB (Bu 5.0 mg/kg s.c. + Seco 75 mg/kg i.p.), MMB) 投与後の麻酔スコアを比較すると、Pent 群および Seco 50, 75 mg/kg i.p. 群では外科的麻酔スコアに到達しなかった。Seco 100 mg/kg 群では外科的麻酔スコアを 40 分まで維持したが、全 8 匹中 2 匹で死亡する個体が観察された。一方で、SB 群では 10 分以内に外科的麻酔スコアに到達し、MMB 群と遜色なく 40 分まで外科的麻酔スコア維持した。また、麻酔薬投与後の血糖値を比較したと

ころ、SB 群の血糖値は MMB 群と比較して有意に低い値を示した ( $p < 0.01$ )。さらに、各群の  $T_{pre}$  と  $T_{post}$  の比較では、2 時間の保温処置終了後に従来用量の MMB 群は有意に低い  $T_{post}$  の値を示し (\*\*:  $p < 0.01$ )、SB 群と比較しても有意に低い  $T_{post}$  を示した (†:  $p < 0.01$ )。一方、SB 群では  $T_{pre}$  と  $T_{post}$  に有意な差は認められず、2 時間の保温処置で十分に麻酔薬投与後も体温を維持できることを確認した。

結論として、①MMB による体温低下作用は著しく、Ati 投与による覚醒処置後も長時間の低体温状態が続くことが明らかとなった。そして、この体温低下の主な原因薬剤は Me であり、②麻酔薬投与後 5 時間以上の保温処置が必要であることが明らかとなった。また、覚醒処置時の Ati 投与量は最小限に抑えるべきであり、Me 量を減らした新用量の MMB (Me/Mi/Bu=0.2/6.0/10 mg/kg) が、その後の体温低下の緩和および保温処置時間の短縮に効果的であることが示された。③Seco は Pent と同様に鎮痛作用に乏しく、外科的処置での単独使用は困難ではあるものの Bu と併用することで安定した麻酔作用を発揮し (SB)、MMB と比較して血糖値および体温 (2 時間の保温処置は必要) への影響も少ないことから、血糖値および体温変動に配慮したマウスの注射麻酔薬として SB は有用であることが示唆された。しかしながら、SB 処置は MMB 処置と異なり、Ati のような拮抗薬が今のところないため、麻酔からの覚醒と回復の調節は困難である。

結論として、現在最も推奨される注射麻酔薬である MMB に関して、体温低下に対しては MMB 用量を調整することで、血糖値の上昇に対しては SB を代替することでマウスに対する適切な注射麻酔薬選択が可能となる。本研究の成果は、動物実験の基本理念である 3Rs の原則のうち、Refinement に寄与する。