

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2023

課題番号：18K05968

研究課題名（和文）猫のレミフェンタニル耐性メカニズムの解明に向けた比較麻酔学的研究

研究課題名（英文）Comparative Anesthesiological Study Towards Understanding the Mechanism of Remifentanil Tolerance in Cats

研究代表者

柴田 早苗（Shibata, Sanae）

岐阜大学・応用生物科学部・准教授

研究者番号：20588917

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：レミフェンタニルは、 μ オピオイド受容体を介して鎮痛効果を発揮するが、犬と猫では効果に差がある。猫では犬よりも効果が弱く、その理由は明らかでない。これを解明するため、犬と猫の血清中の非特異エステラーゼ活性が調査され、特に猫に存在するCarboxylesterase（CES）がレミフェンタニルの分解に関与している可能性が示唆された。さらに、犬におけるレミフェンタニルの薬物動態を解析し、投与後速やかに血漿中濃度が最高に達し、その後迅速に低下することが確認された。この結果は、レミフェンタニルの効果の動物種間差を理解する上で重要な情報を提供する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この研究は犬と猫におけるレミフェンタニルの鎮痛効果の違いを明らかにし、動物種間でのオピオイド受容体および酵素活性の差異を解明することで、動物の痛み管理に対する理解を深める学術的な基盤を築いた。特に、猫におけるCarboxylesteraseの活性が鎮痛効果に及ぼす影響の検証は、獣医師がより効果的な痛み緩和策を選択するのに役立つ。社会的には、適切な痛み管理が動物福祉の向上に寄与し、動物と人間との関係を強化することにもつながる。

研究成果の概要（英文）：Remifentanil, which acts at the μ -opioid receptor to produce analgesia, is known to have different effects in dogs and cats. Cats have a weaker analgesic response to remifentanil than dogs, but the reasons for this are unclear. To investigate the cause, a study was conducted on the activity of non-specific esterases in canine and feline serum, enzymes involved in the degradation of drugs such as remifentanil with ester bonds. In particular, the presence of carboxylesterase (CES) in cats, which may play a role in the metabolism of remifentanil, was suggested as a potential factor for the reduced effect in cats. In addition, the pharmacokinetics of remifentanil in dogs was analyzed using canine plasma and showed that the drug reaches peak plasma concentrations rapidly after administration and then declines rapidly. These findings provide important insight into the differences in the pharmacodynamics and pharmacokinetics of remifentanil between species.

研究分野：獣医麻酔学

キーワード：レミフェンタニル 犬 猫

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

人や犬の術中鎮痛によく用いられるオピオイドとして、レミフェンタニルが挙げられる。レミフェンタニルは、選択的に μ -オピオイド受容体に結合し、鎮痛効果を発揮する合成型の麻薬性オピオイドである。作用発現が速く、さらに構造内にエステル結合を有しており、血清中の非特異的エステラーゼおよび組織中の非特異的エステラーゼにより急速に加水分解される。このため、レミフェンタニルの消失半減期は約 6 分と非常に短く、体内に蓄積しにくいことから、術中に高用量で使用する場合、手術終了後の呼吸抑制などの副作用が少ない。また、レミフェンタニルは非特異的エステラーゼにより加水分解されるため、代謝や排泄は肝機能および腎機能に依存しない。したがって、レミフェンタニルは長時間を要する外科手術や肝疾患および腎疾患を有する犬の術中鎮痛に多用されている。

レミフェンタニルの作用には、犬と猫とで差異がある。麻酔中の犬に、レミフェンタニル $0.15 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ を持続的に投与すると、吸入麻酔薬であるイソフルランの MAC が約 43% 減少し、麻酔要求量を軽減したという報告がある。一方、麻酔中の猫にレミフェンタニル $0.25 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ を投与しても、吸入麻酔薬の MAC は変化しなかったという報告がある。さらに、レミフェンタニルの投与速度が $0.2 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ では、麻酔中の猫は疼痛反応を示して、鎮痛効果が得られなかったという報告もある。意識下の犬にレミフェンタニルを投与すると、呼吸が次第に弱まり、無呼吸が高頻度に発生する。一方、意識下の猫に高用量で投与しても、活動性が上昇するだけで無呼吸や徐脈などの副作用は認められなかったと報告されている。このように、犬および猫でレミフェンタニルの作用には大きな差異が認められる。人におけるレミフェンタニルの作用は、犬に対する作用と類似しており、強力な鎮痛効果を発揮する一方、呼吸抑制や徐脈などの副作用が生じやすい。これらのことから、人および犬と異なり、猫においてレミフェンタニルによる鎮痛作用は得難く、その副作用もほとんど認められないことがわかる。しかしながら、その機構については未だに不明である。

レミフェンタニルを急速に加水分解する非特異的エステラーゼとは、低級のカルボン酸エステルを水との化学反応により、カルボン酸およびアルコールに代謝する加水分解酵素である。このことから、猫においてレミフェンタニルによる鎮痛効果が得られない理由として、血清に存在する非特異的エステラーゼの関与を疑った。血清中に存在する非特異的エステラーゼの種類は、動物ごとに異なる。犬の血清中には、主に Paraoxonase1 (PON1)、Butyrylcholinesterase (BChE) およびアルブミンの 3 つの非特異的エステラーゼが存在する。他方、猫の血清中には、PON1、BChE およびアルブミンだけでなく、犬の血清中にはほとんど分布されていない Carboxylesterase (CES) の 4 つの非特異的エステラーゼが存在する。アルブミンによる非特異的エステラーゼ作用の活性化は pH が 8.5 を超えないと生じないため、pH が約 7.4 の血液では、アルブミンによる非特異的エステラーゼ作用はほとんどないと考えられる。これらのことから、レミフェンタニルの分解に関与する非特異的エステラーゼは、PON1、BChE あるいは CES である可能性が高いと考え、研究計画を立案した。

2. 研究の目的

非特異的エステラーゼとして、犬血清には PON1 および BChE、猫血清には PON1、BChE および犬の血清にほとんど存在しない Carboxylesterase (CES) が存在することが知られているが、犬と猫の血清 CES 活性について定量した報告はない。そこで本研究では、血清非特異的

エステラーゼに関する猫の特殊性をより明確にするために、他の動物種と猫における血清中の PON1 活性、BChE 活性および CES 活性を測定し、比較検討することを目的とした。なお、猫との比較対象とした動物種として、中型から大型の実験動物として用いられている犬、豚および山羊を採用した。また、各動物種におけるレミフェンタニルの血中動態の把握に向けて、血中レミフェンタニル濃度の測定方法を確立することとした。

3. 研究の方法

実験 1: 健常なビーグル犬、雑種猫およびマイクロミニピッグ 6 頭ずつを用いて血清中の PON1 活性、BChE 活性および CES 活性を測定した。血清 PON1 活性および BChE 活性は、PON1 活性測定キットおよび BChE 活性測定キットを用いて算出した。血清 CES 活性は、基質である酢酸 1 ナフチルが分解される際の吸光度変化から算出した。

実験 2: 健常な犬 1 頭を用いた。犬の血漿に RF をそれぞれ 0.5、1、5、10、50 あるいは 100 ng/mL を添加し、さらに内部標準物質としてノルフェンタニル (NF) を 49.5 ng/mL になるように添加した。さらに、アセトニトリルを加え遠心処理を実施し、上清を回収した。続いて、メタノールおよび超純水を注入したカートリッジに上清を添加し、2 %酢酸と超純水、メタノールおよび酢酸の 93/5/2 混合溶液で洗浄した後、メタノールと 2 %酢酸の 60/40 混合溶液で溶出させた。溶出液はエバポレーターを用いて蒸発させ、測定する直前まで -80 °C で保存した。液体クロマトグラフィー質量分析装置 (UPLC-MS) を用いて RF および NF を検出し、検量線を作成した。

実験 3: 健常な犬 5 頭を用いた。セボフルラン麻酔中の犬に RF を 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ で 5 分間の静脈内投与を実施し、投与開始 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、14、16、18、20、25 および 30 分後に採血を行った。実験 1 と同様の前処理および定量方法を用いて、RF および NF を検出した。検量線をもとに血中 RF 濃度を算出し、薬物動態解析としてノンコンパートメント解析を実施した。

4. 研究成果

実験 1: 犬、猫および豚血清中の PON1 活性の中央値 (範囲) は、それぞれ 195.3 (173.6-260.3) U/L、201.5 (87.5-217.7) U/L および 6.5 (0.4-17.7) U/L であり、犬および猫の PON1 活性は豚と比較して高かった。犬と猫の PON1 活性の間に有意差は認められなかった。犬、猫および豚血清中の BChE 活性は、それぞれ 3.28 (1.89-4.99) U/mL、2.08 (1.38-3.12) U/mL および 0.19 (0.10-0.30) U/mL であり、犬および猫の BChE

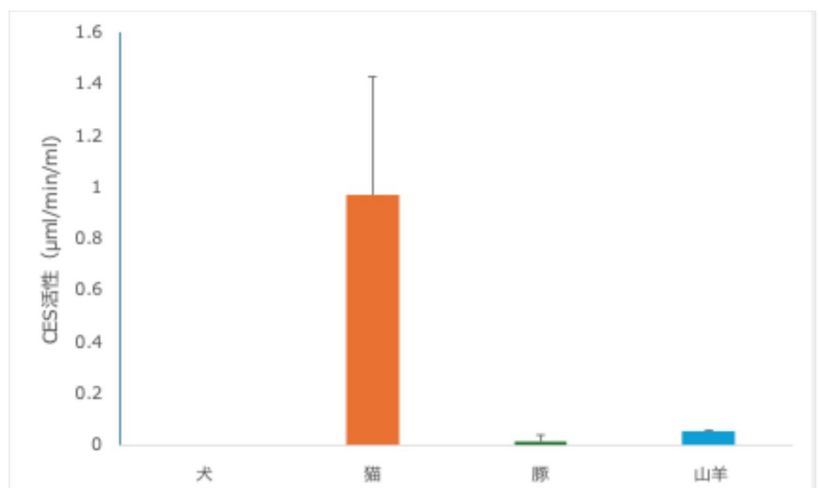


図 1: 犬、猫、豚および山羊の CES 活性

活性は豚と比較して高かった。犬と猫の BChE 活性の間に有意差は認められなかった。犬、猫、豚および山羊における血清中の CES 活性は、それぞれ 0.00 (0.00-0.00) $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}$ 、1.07 (0.45-1.70) $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}$ 、0.00 (0.00-0.06) $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}$ および 0.05 (0.05-0.06) $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}$ であった (図 1)。これらのことから、PON1 および BChE とは異なり、CES は猫特有の血清非特異的エステラーゼであった。このことから、猫におけるレミフェンタニル耐性と CES との関連を精査していく必要があると考えられる。

実験2：血漿中のレミフェンタニルおよびノルフェンタニルを検出したところ、レミフェンタニル濃度とレミフェンタニル/ノルフェンタニルピーク面積の間に直接的相関（相関係数 0.99）を持つ検量線が得られた。全ての濃度で十分な検出強度であったことから、犬における血中レミフェンタニル濃度測定法は確立されたと考えた。

実験3：麻酔中の犬にレミフェンタニルを投与したところ、レミフェンタニル濃度は投与開始4分後に最高血漿中濃度に到達し、それ以降は速やかに低下した。ノンコンパートメント解析を実施したところ、最高血漿中濃度は 162.1 ± 77.9 ng/mL、最高血漿中濃度到達時間は 4 ± 0.9 分、薬物血漿中濃度 - 時間曲線下面積は 773.3 ± 284.9 ng·min/mL、消失速度定数は 0.156 ± 0.02 /min、消失半減期 ($t_{1/2}$) は 4.53 ± 0.63 分、全身クリアランス (CL_{tot}) は 11.4 ± 4.8 mL/min/kg、分布容積 (V_d) は 75 ± 38.2 mL/kg、平均滞留時間 (MRT) は 5.19 ± 0.97 分であった。 $t_{1/2}$ および MRT は過去の研究と類似する一方、 CL_{tot} は低い値を示し、先行研究と比較して体内からの排泄が遅いことが示唆された。 V_d は犬の血液量に近い値を示したため、レミフェンタニルの分布は血液に限られており、組織移行性が低いことが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 笠井 颯平, 小林 寛, 淵上 仁美, 小野寺 理沙子, オブライエン悠木子, 高島 諭, 西飯 直仁, 柴田 早苗
2. 発表標題 犬、猫および豚における血清中の非特異的エステラーゼ活性の比較
3. 学会等名 第164回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	小野寺 理沙子 (Onodera Risako) (60720399)	熊本大学・大学院生命科学研究部(薬)・特任助教 (17401)	
研究分担者	オブライエン 悠木子 (O'brien Yukiko) (20582464)	東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・准教授 (12605)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------