

平成30年6月24日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K06813

研究課題名(和文) マウス・ラットに対する実践的かつ動物愛護に配慮した吸入麻酔法の開発

研究課題名(英文) Development of an inhalation anesthesia method that takes practical and animal protection into consideration for mice and rats

研究代表者

今野 兼次郎 (KONNO, Kenjiro)

京都大学・iPS細胞研究所・准教授

研究者番号：30323348

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本助成金にて購入した「ソムノスイート低流量マウス・ラット用麻酔システム(MAS)」を用いて、マウスやラットに対して、気管挿管ならびに吸入麻酔を施し、麻酔中のバイタルサインや呼吸に関する各種パラメーターに関する情報を検討した。その結果、MASを用いた1時間程度の吸入麻酔では、ラットに関しては、ヒト同様に比較的安全な麻酔を施せる事が示唆されたが、マウスの場合には、より詳細な検討が必要と思われた。

研究成果の概要(英文)：Information on both vital signs and various parameters concerning respiration during anesthesia using SomnoSuite; Low-Flow Anesthesia System (MAS) purchased at this grant to the tracheal-intubated mice and rats were recorded and analyzed. As a result, it was suggested that in inhalation anesthesia using MAS for about 1 hour, relatively safe anesthesia can be applied to the rats as well as humans. On the other hand, in the case of the mice, it seemed that more detailed examination was necessary. Furthermore, both the mice and rats showed that it takes time to recover their weight after the inhalation anesthesia, suggesting not only intraoperative management but also perioperative management is important.

研究分野：実験動物医学を専門とする獣医師

キーワード：マウス ラット 吸入麻酔 気管挿管 動物愛護 マスク麻酔 外科処置 疾患モデル

1. 研究開始当初の背景

(1) 麻酔は実験動物に多大なる影響を及ぼすと共に、動物実験のデータをも左右する。従って、その適正な使用は大変重要である。

(2) また、動物実験は本来、ヒトへの外挿を想定している。従って、実験動物に対する麻酔も、出来るだけヒトに準じた処置を施す事が望ましいと考えられる。しかし、実際にはヒトと実験動物への麻酔法は大きく掛け離れているのが現状である。

2. 研究の目的

(1) 上述の背景を鑑み、本研究では、ヒトや小動物の臨床において一般に用いられている全身麻酔の1つである気管挿管を施して人工呼吸器を用いた吸入麻酔を、実験動物として最も頻繁に使用されるマウスやラットを用いる実験者に普及出来る程度に、出来るだけ簡便かつ確実、そして実践的な方法を開発する事を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 使用動物と週期の獣医学的ケア

9週齢のC57BL/6Jマウス、雌雄各16匹を購入し、そのうち各8匹は10週齢で、残り8匹は15週齢で実験に用いた。

一方、9週齢のWistarラット、雌雄各12匹を購入し、そのうち各6匹は10週齢で、残り6匹は20週齢で実験に用いた。なお、麻酔直前から術後1週間は、体重測定を行うと共に、健康状態を確認した。

(2) 気管挿管と麻酔装置を用いた吸入麻酔

マウスおよびラットへの前処置ならびに吸入麻酔の時間的経過を、それぞれ図1と図2に示した。

気管挿管に関しては、研究代表者が2014年に論文発表した方法 (Konno *et al*, 2014a and Konno *et al*, 2014b) で実施した。簡潔に説明すると、3種混合麻酔薬 (M/M/B: 0.3/4/5)、すなわちメドミジン (0.3 mg/kg b.w)、ミダゾラム (4.0 mg/kg b.w) そしてブトルファノール (5.0 mg/kg b.w) を腹腔内投与し、十分な麻酔効果が得られた時点で内視鏡を用いて、マウスおよびラットへの気管挿管を行った。

気管挿管後、麻酔中のバイタルサインを常時測定するために、MouseOX Plus をセットした。なお、人工呼吸に関しては、本助成金にて購入した「ソムノスイート低流量マウス・ラット用麻酔システム (MAS)」を用いたが、麻酔回路接続直後には、メドミジンの拮抗薬であるアチパメゾールを腹腔内投与した (5.0 mg/kg b.w)。

MAS の設定は、マウスでは呼吸回数 (BMP) が 140 回/分、I / I+E = 1:2、ターゲットボリューム (TV) は雌雄それぞれ 15 あるいは 14 cmH₂O、PEEP は 1.0 cmH₂O、SIGH モードは呼吸 60 回に 1 回の割合で雌雄それぞれ 17 あ

るいは 16 cmH₂O に設定した。

一方、ラットに対しては、呼吸回数 (BMP) が 70 回/分、I / I+E = 1:2、ターゲットボリューム (TV) は雌雄それぞれ 16 あるいは 15 cmH₂O、PEEP は 1.0 cmH₂O、SIGH モードは呼吸 30 回に 1 回の割合で雌雄それぞれ 18 あるいは 17 cmH₂O に設定した。

そして、マウスの麻酔濃度と時間は、麻酔回路接続後から 1 分間はイソフルラン 3.0% で、その後 30 分間は 2.0% で、さらに 1.5% で 9 分間、合計 40 分間をイソフルランで吸入麻酔を施した。その後は、自発呼吸が回復するまで人工呼吸器にて空気を供給した。

一方、ラットに対しては、麻酔回路接続後から 3 分間はイソフルラン 3.0% で、その後 30 分間は 2.0% で 57 分間、吸入麻酔を施した。その後は、引込め反射 (withdrawal reflex) が復活し、SpO₂ が 85% 以上に回復するまで人工呼吸器にて空気を供給した。



図1 マウスへの前処置ならびに吸入麻酔の時間的経過。

- a; 三種混合麻酔薬 M/M/B: 0.3/4/5 を腹腔内投与。
- b; M/M/B: 0.3/4/5 投与 3 分後に左大腿部を剃毛し、MouseOX Plus のセンサーを装着。
- c; M/M/B: 0.3/4/5 投与 7 分後に気管挿管開始し、挿管完了後にマウスの健康状態を確認する。
- d; M/M/B: 0.3/4/5 投与 20 分後に麻酔回路に接続しイソフルラン濃度 3.0% で 1 分間、吸入麻酔すると共に、回路接続直後にアンチセダンを腹腔内投与。
- e; M/M/B: 0.3/4/5 投与 21 分後から 30 分間、イソフルラン濃度 2.0% で吸入麻酔を維持。
- f; M/M/B: 0.3/4/5 投与 51 分後から 19 分間、イソフルラン濃度 1.5% で吸入麻酔を維持。
- g; M/M/B: 0.3/4/5 投与 60 分後から 10 分間、キャリアガスのみで吸入麻酔を維持。
- h; マウスの自発呼吸回復を確認後、気管チューブを抜管しマウスの健康状態を 10 分間観察。
- i; マウスの覚醒が確認された後、ケージに戻す。

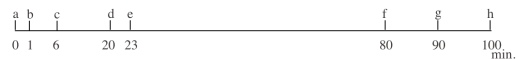


図2 ラットへの前処置ならびに吸入麻酔の時間的経過

- a; 麻酔ボックスの中で 1 分間、イソフルラン濃度 5.0% でラットを鎮静。
- b; 三種混合麻酔薬 M/M/B: 0.3/4/5 を腹腔内投与。
- c; M/M/B: 0.3/4/5 投与 3 分後に気管挿管開始し、挿管完了後にラットの健康状態を確認する。

d; M/M/B: 0.3/4/5 投与 20 分後に麻酔回路に接続しイソフルラン濃度 2.5% で 3 分間, 吸入麻酔すると共に回路接続直後にアンチセダンを腹腔内投与.

e; イソフルラン濃度 2.0% で吸入麻酔を維持.

f; キャリアガスのみで吸入麻酔を 10 分間維持.

g; ラットの自発呼吸回復を確認後, 気管チューブを抜管しマウスの健康状態を 10 分間観察.

h; ラットの覚醒が確認された後, ケージに戻す.

(3) 吸入麻酔中のバイタルサインモニタリング

マウスとラット共に, 吸入麻酔中のバイタルサイン, すなわち血中酸素飽和度 (SpO_2), 呼吸数 (RR, 回数/分), 心拍数 (HR, 回数/分) ならびに直腸温 (CT,) を MouseOX Plus にて常時測定ならびに記録した (マウス; 図 3, ラット; 図 6). また MAS にて, 1 回換気量 (TV, mL) と回路内圧 (CIP, cmH_2O) を常時測定ならびに記録した (図 4 および 7).

(4) 周術期管理ならびに獣医学的ケア

マウスに対しては, 麻酔直前から術後 2 週間は, 体重測定を行うと共に, 健康状態を確認した (図 5). また, ラットに対しては, 麻酔直前から術後 1 週間, マウスと同様に実施した (図 8).

4. 研究成果

(1) 吸入麻酔したマウスの各種バイタルサインの経時的变化を図 3 に示した. 今回の実験では, キャリアガスに空気をういたが, 時間の経過と共に SpO_2 がゆっくりと低下していった. また, 呼吸に関しては, 図 4 の結果から MAS の働きが安定していたと考えられるが, MouseOX Plus にて測定された値は安定していたとは言いがたい結果であった. そもそも, 今回のイソフルラン濃度を経時的に変化させる設定に決定するにあたり, マウスが麻酔濃度の僅かな変化によって, 麻酔状態が大きく左右される事をこれまでの実験で把握していたために, それを実証するために設定した.

今回の前処置ならびに吸入麻酔は, ほぼヒーターマット上で実施したが, 吸入麻酔回路に接続するまでにかかなりの体温低下を招いており (図 3D), この点は改善の必要があるかもしれない.

最後に, 術後の体重変化に関してである. 術後体重が術前に回復するまでにオスでは 4 日を要したが, メスは体重の増減が激しく, 術前体重を下回る値を示す事が無くなるまでに 7 日を要した (図 5). 以上の結果から, マウスにとって人工呼吸器を用いた吸入麻酔は肉体的消耗が激しい事が考えられる. また, 今後詳細な検討を要する必要がある.

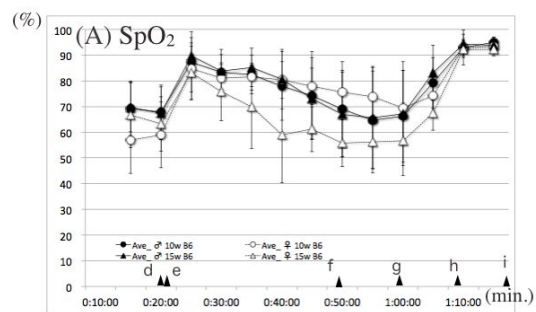
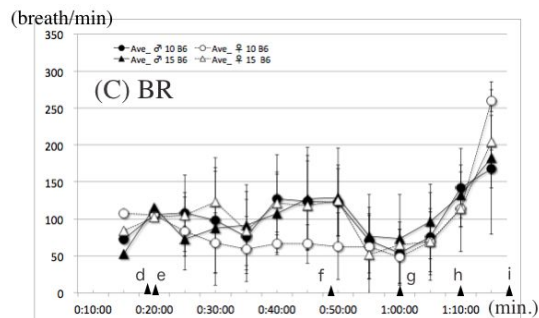
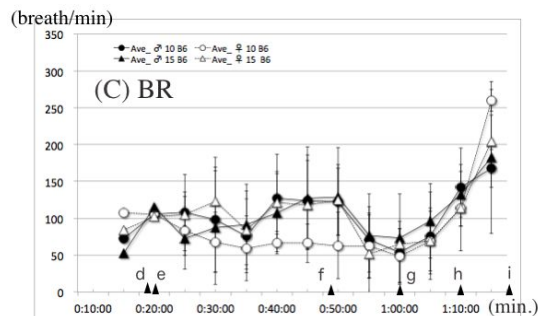


図 3 吸入麻酔したマウスの各種バイタルサインの経時的变化.

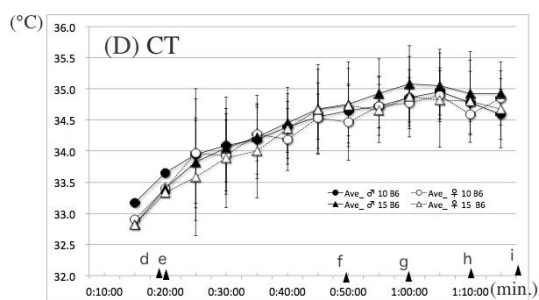
(A) SpO_2 ; arterial oxygen saturation (%),



(B) HR; heart rate (beat /min),



(C) BR; breath rate (breath /min)



(D) CT; rectum temperature ($^{\circ}C$).

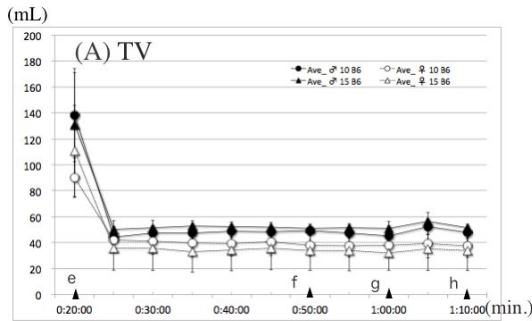
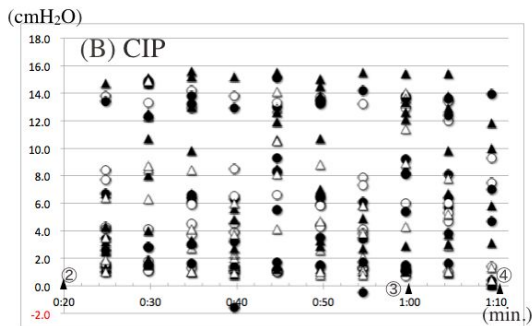


図4 吸入麻酔したマウスの各種呼吸パラメータの経時的変化。

(A) TV; tidal volume (mL)



(B) CIP; circuit internal pressure (cmH2O).

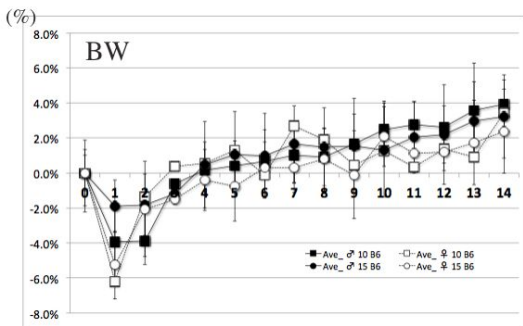


図5 吸入麻酔したマウスの体重の経時的変化。

(2) 一方、ラットに対しても MAS を用いた吸入麻酔を施したが、マウスとは異なり、バイタルサインならびに呼吸器パラメータは、比較的安定した値を示した。1 点気になるのは、マウス同様に術中の SpO₂ 値である。マウス程ではないが、やはり麻酔時間の経過と共に、その値がゆっくりと減少している結果となった。ただし、今回はキャリアガスとして空気をを用いている事から、キャリアガスの酸素濃度を高める事により十分に改善される事が予想される。なお、今回の結果からは、イソフルランの吸入を停止してから覚醒までの良好な覚醒プロセスから、1 時間程度の吸入麻酔であればキャリアガスとして空気を選択肢の 1 つにする事が大きな問題にはならないと考えられる。

もう 1 点気になる結果が得られた。それは術後の体重の回復に関してである。10 週齢の雌雄ラットでは、術後 3 日目までに体重が術前以上に戻り、その後も安定して体重が増加

していったが、20 週齢の雌雄ラットでは、術後 1 週間を経過しても、術前の体重まで回復する事はなかった(図 8)。以上の結果から、術後毎日ラットの健康観察を行い、異常は全く確認されなかったものの、健康管理が重要である事が示唆された。

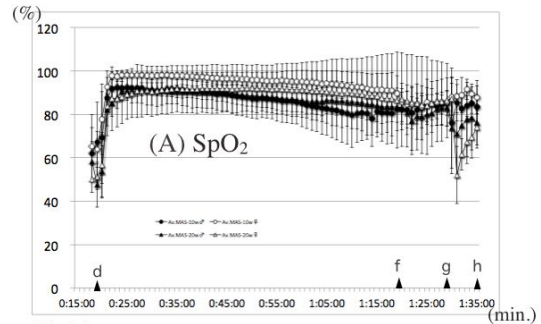
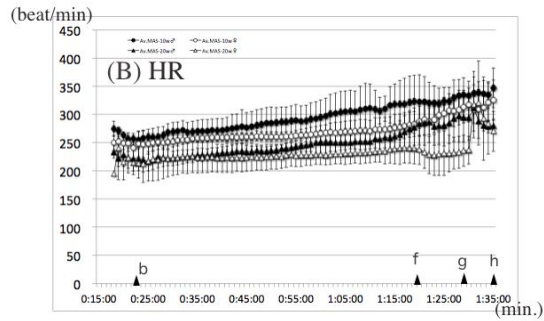
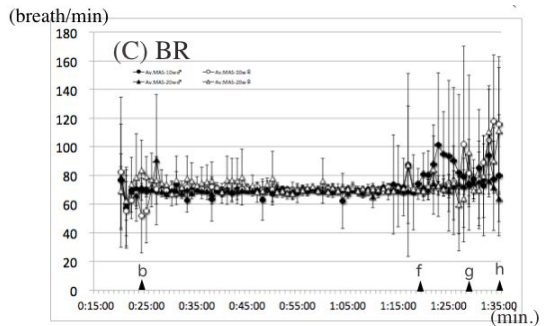


図6 吸入麻酔したラットの各種バイタルサインの経時的変化。

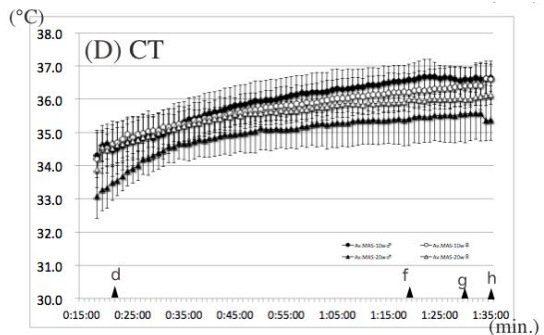
(A) SpO₂; arterial oxygen saturation (%),



(B) HR; heart rate (beat /min)



(C) BR; breath rate (breath /min)



(D) CT; rectum temperature (°C).

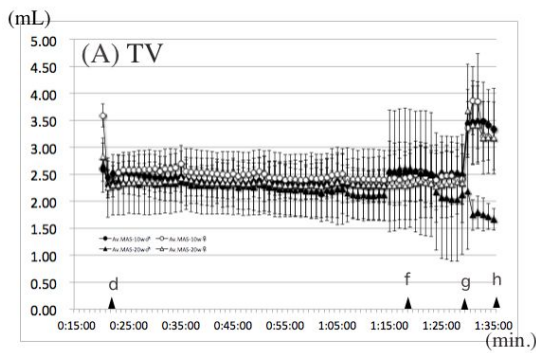
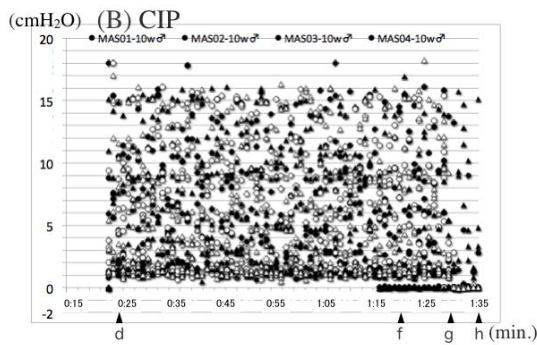


図 7 吸入麻酔したラットの各種呼吸パラメータの経時的変化.

(A) TV; tidal volume (mL)



(B) CIP; circuit internal pressure (cmH2O)

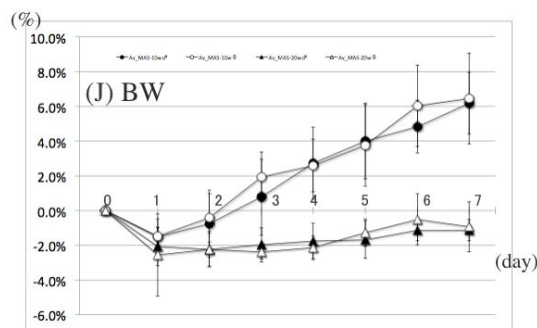


図 8 吸入麻酔したラットの体重の経時的変化.

(3) 今回の実験結果を鑑み、実験動物医学専門医を目指す方々が参加される、実験動物医学会主催のウェットハンド研修会にて、この方法を実施して頂いた。その結果、普段からマウスやラットを用いて実験をしている参加者は、内視鏡を用いたマウスやラットへの気管挿管が比較的容易に出来る様になる事を実感して頂く事が出来た。ただし、参加者の殆どが人工呼吸器を用いた経験がないため、マウスやラットへの人工呼吸器を用いた吸入麻酔に関しては敷居が高く、ある程度のトレーニングが必要である事も確認された。以上の結果から、本実験で開発されたマウスやラットへの内視鏡を用いた気管挿管ならびに人工呼吸器を用いた吸入麻酔に関しては、普及を図るためには、今後もウェットハンドトレーニングを開催していく事が必要である事が確認された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)
なし。(現在投稿準備中)

〔学会発表〕(計 2 件)

「ラットへの気管挿管と人工呼吸器を用いた吸入麻酔」今野兼次郎・橋浦正之, 日本獣医学会, 平成 28 年 9 月(神奈川県藤沢市 日本大学生物資源科学部にて)

「Easy and safe endotracheal Intubation using the endoscope and inhalational anesthesia for mice」Kenjiro Konno& Masayuki Hashiura, 68th AALAS National Meeting, 平成 29 年 10 月(Austin, TEXAS)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
なし

〔その他〕

実験動物医学会主催のウェットハンド研修会 ~マウス・ラット・ウサギ~

平成 28 年 5 月 15-16 日(神奈川県川崎市)

平成 28 年 9 月 2-3 日(神奈川県藤沢市)

6. 研究組織

(1)研究代表者

今野 兼次郎 (KONNO, Kenjiro)
京都大学・iPS 細胞研究所・准教授
研究者番号：30323348

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

なし