

覚醒下動物実験は必要か

高折益彦*

はじめに

最近、動物実験を行うにあたり、動物をよく実験者に慣れさせて、種々の実験操作を、動物の覚醒下に行うことが必要であると論じられている。これは、今までのように麻酔状態で動物実験を行うと、麻酔状態そのものの影響、麻酔薬それ自身の影響が実験成績に変化を与え、誤った結果、誤った解釈を導入する可能性が、あるからであるという根拠によっている。

また、運動状態下における種々の生理機能を研究する必要性から、いかにしても覚醒状態を保つたうえで、研究操作を行うことが要求されてきている。しかしながら、実験動物と実験者とのあいだには、特殊な場合を除き互いに意志の疎通がなく、動物が実験者が希望するような安静状態、あるいは運動状態を保つことは必ずしも常にえられるものでない。また呼吸に関する種々の研究では、多くの場合、覚醒下での研究は不可能に近いものであり、何らかの鎮静、麻酔が必要と考えられている。さらに実験操作によっては、かなり動物に刺激となるものもあり、これにより動物が、苦痛を受けていると、想像される(?)場合もある。動物愛護の面からも、適当な麻酔、鎮静は必要であり、数年前まで *American Journal of Physiology* の各号の冒頭には“適切な動物管理下で、動物実験が行われなければならない注意 (guiding principle in the care and use of animals by “Recommendations from Declaration of Helsinki”)”が、掲載されていたとおりである。たとえ

動物愛護の面に立たなくとも、実験操作そのものが刺激となり、それによる変化を観察してしまう結果も招きかねない。

以上のような、種々の理由から動物実験は、麻酔状態下で行うべきか、それとも覚醒下で行うべきか、この2つの問題のジレンマに、各研究者は立たされることとなる。そこで今回、このような覚醒下での研究は、本当に必要なのか、またもし必要であるとするならば、どのような場合に必要なのか、検討してみることにした。

1. 麻酔にともなう研究成績の歪み

麻酔薬が呼吸系、循環系、中枢神経系に大きな影響を及ぼすことは、古くから知られていた。しかし上述した諸種の理由から、実際には少量の麻酔薬 (主としてペントバルビタール、ウレタン、クロラローゼなど) を用いて、研究が行われてきていた。これに対して1972年 Cox¹⁾ は、大動脈基部に電磁流量計を、大動脈、左心室、上大静脈に、カテーテルを挿入したイヌを10~14日間飼育し、研究者に十分慣れさせた後、イソプロテレノール投与に対する循環系諸因子の変化を観察し、つぎに、30mg/kg のペントバルビタールを投与し、この麻酔状態下における反応の変化とを、比較観察した。それによると、ペントバルビタール麻酔は、イソプロテレノールで生じる心拍数の増加、末梢血管抵抗の減少を軽減し、大動脈血流量の増加の程度が、抑制されることを認めた。すなわち、ペントバルビタール麻酔によって、すでに末梢血管抵抗が減少させられている状態では、イソプロテレノールによる薬効が、減少するものと解釈された。さらに、1975年 Vatner, Braunwald²⁾ は、

* 川崎医科大学麻酔科

2%ハロセンの吸入, 30mg/kg のペントバルビタールの投与に伴う心機能への影響を研究し, 心筋収縮の指標としての (dp/dt)/P が, 麻酔により著しく抑制されることを認めた. そして出血に対して, 覚醒下では腎血流量は維持されるのに, 麻酔下では著しく低下することも報告している. さらに動物に, ドブタミン, ノルエピネフリンのような心作動薬が, 投与されたときの反応も覚醒時と麻酔下とは, 異なることを認めている.

このように, 麻酔下と覚醒下とは, 薬物, 外的刺激に対する循環系の反応が, 異なることには,

(1) 麻酔状態それ自身が非生理状態である.

(2) 中枢神経系——麻酔によっても, もっともその機能に変化を生じる——による他の生体機能 (たとえば循環, 呼吸など) への調節機構が麻酔, とりわけ全身麻酔によって抑制される. などの理由から修飾される. たとえば, 上記 Cox の研究成績も, ペントバルビタールが, すでに末梢血管に対しては, ある程度イソプロテレノールの効果を発揮しているため, イソプロテレノールの本来の効果が抑制される結果を招いたように思われる. また, 麻酔それ自身が, すべに非生理的といえる理由としては, 血圧のように比較的恒常性が, 保たれるべきものにおいて変化を生じている点からもうかがうことができる.

すなわち, 表 1 はわれわれの過去の研究中にえられた覚醒時, 麻酔下の雑種成犬の動脈圧(平均), 中心静脈圧, 心拍数の値である. これで見られるように覚醒群とハロセン群との動脈平均血圧とのあいだには, 出血前有意差が認められないが, 出

血後においては, 明らかな差を認める. またペントバルビタール群では, 出血後30分間における動脈平均血圧の回復が著明であり, 心拍数は, むしろ減少傾向にある. しかし覚醒群とハロセン群とでは, 心拍数が増加傾向にある. 中心静脈圧 (右心房平均圧) についてみると, 覚醒群ではその低下が少なく, ペントバルビタール群でやや著明であるように思われる.

このように, 循環生理の基本的指標となっている動脈血圧, 心拍数において, このように麻酔の影響が強く現われてくることから, 何らかの操作, たとえば出血—輸血, 薬剤投与などに伴う循環系の変化を, 追求せんとする場合, 果たしていかなる時点を対照値として選ぶべきか, いかなる群を対照群とすべきか, 迷うことになる. そして麻酔状態下において, 何ら操作が行われていないものを, 単に対照とすることによって, 研究目的とする操作の効果を, ときには過大に, ときには過少に評価することの誤差を招く可能性も多い.

2. 麻酔にあまり影響を受けない研究

Samar³⁾は, 覚醒状態下のラットの mean circulatory filling pressure を測定している過程で, ペントバルビタール麻酔下では, 血液量変化に伴う mean circulatory filling pressure の変化は, 覚醒時の変化に平行しているものの, 覚醒時に比し mean circulatory filling pressure が, 常に 3 mmHg 低く維持されていることを認めた. しかるに innovar (fentanyl + droperidol) = NLA 麻酔では, hypovolemia 時の値に差を認めるもの

表 1. 正常雑種成犬における血圧, 中心静脈圧, 心拍数の麻酔による対照値ならびに出血に伴う変化

出血量: 10ml/kg (覚醒群), 15~20ml/kg (ペントバルビタール群, ハロセン群).
ペントバルビタール投与量: 25ml/kg.
ハロセン吸入濃度 0.8%.

	n	動脈平均血圧 mmHg		中心静脈圧 mmHg		心拍数 beats/min	
		出血前	出血後 30分	出血前	出血後 30分	出血前	出血後 30分
覚 醒 群	n = 5	109 ± 8	92 ± 11	4 ± 3	2 ± 3	96 ± 19	118 ± 16
ペントバルビタール麻酔群	n = 6	134 ± 14	121 ± 22	5 ± 3	1 ± 1	144 ± 25	138 ± 30
ハロセン麻酔群	n = 6	114 ± 14	82 ± 14	5 ± 2	2 ± 1	116 ± 22	137 ± 25

mean ± standard deviation

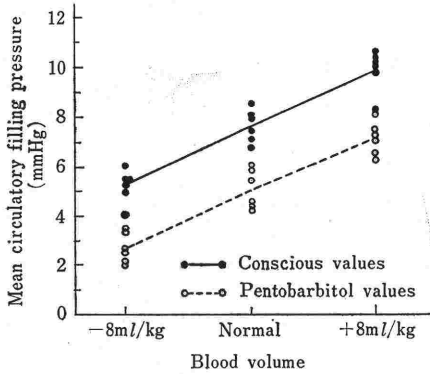


図 1. 血液量変化に伴う mean circulatory filling pressure の変化……覚醒時とペントバルビタール麻酔時との比較

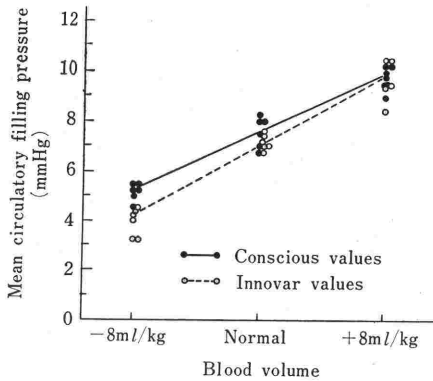


図 2. 血液量変化に伴う mean circulatory filling pressure の変化……覚醒時とNLA時との比較

の normo-, および hypervolemia 時には、覚醒下における値と差を認めなかった(図1, 2). Yamamoto⁴⁾は、追加実験を覚醒下のラットについて行い、メトヘキソール、 α -クロラローゼ併用麻酔下で行った Drees⁵⁾の研究結果を、肯定する報告を行い、このさい、あまり麻酔の有無、種類は問題にならないように報告をしている。

つぎに血液希釈に伴う心拍出量変化について検討してみる。表2は覚醒下、ならびに麻酔(ペントバルビタール)下に、血液希釈を行った各報告にみられる心拍出量の変化を示したもので、実験動物には、すべて雑種成犬を使用している。この表2にみられるように、覚醒下に血液希釈を行った群(Glick, Chamorro)での心拍出量の増加は、

表 2. 血液希釈とそれに伴う心拍出量の変化

実験数		Hematocrit (%)		心拍出量変化率 希釈前値=100	
		希釈前	希釈後	希釈前	希釈後
		Glick ⁽⁶⁾	* n = 7	39 ± 1	14 ± 0
Chamorro ⁽⁷⁾	* n = 24	35 ± 4	17 ± 4	100	192
Murray ⁽⁸⁾	† n = 10	41	16	100	172
Takaori ⁽⁹⁾	† n = 10	43 ± 6	10 ± 2	100	169
Messmer ⁽¹⁰⁾	† n = 8	42 ± 3	19 ± 1	100	169

* 覚醒下血液希釈.

† ペントバルビタール麻酔下血液希釈.

麻酔下に血液希釈を行ったときのそれに比して、やや著明であるように思われる。Glick⁶⁾は、報告のなかで心臓神経の denervation を行った場合、行わなかった場合に比して、心拍出量の増加が大きいと述べていることから、血液希釈に伴う心拍出量増加に、神経系が多少関与していることを示唆している。したがってこの変化に、麻酔が影響しているであろうことは、決して否定できない。しかし、Glick⁶⁾, Chamorro⁷⁾の研究ともに、心拍出量測定を色素希釈法で行っているところに問題がある。その理由は、覚醒下の動物、たとえそれがよく慣らされたものでも、色素希釈法のために、動脈血を densitometer へ吸引することが刺激となること、さらに色素希釈法は、心拍出量増大の場合、実際の値をより一層大きく表現する誤差を内蔵することである。

また望月¹¹⁾は、1/2濃度に希釈されたサビオゾール[®],あるいは乳酸加リンゲル液を、出血のほとんどないハロセン-笑気麻酔症例、および覚醒状態にある volunteer に投与して、その血液量、細胞外液量の変化を観察したところ、麻酔症例と volunteer とのあいだで、これらの因子の変化に、差がないことを認めている(表3)。すなわち、この研究にみられるように、中枢神経系からの調節が少ない生理変化に対し、麻酔はほとんど影響を及ぼしていないように思われる。

さらに、Ca⁺⁺拮抗薬 diltiazem に関する Flaim¹²⁾の研究(覚醒下ラットにおける)と、30mg/kg のペントバルビタール麻酔下の雑種成犬において行った Imai らの研究¹³⁾との比較では、麻酔の影響は、ほとんど認められていない。すなわち、diltiazem

表 3. 麻酔症例ならびに覚醒 volunteer への乳酸加リンゲル液, 1/2サビオゾール液*投与に伴う体液量の変化

		血漿量 (ml/kg)		血液量 (ml/kg)		細胞外液量	
		変化量		変化量		変化量	
		投与前	投与後	投与前	投与後	投与前	投与後
乳酸加リンゲル 投与							
麻酔症例	n = 8	55.3 ± 7.1	64.7 ± 11.0 +(9.4 ± 6.3)	87.3 ± 11.2	96.0 ± 12.5 +(8.5 ± 9.4)	179 ± 20	220 ± 26 +(40 ± 13)
volunteer	n = 5	63.0 ± 9.5	69.1 ± 9.5 +(6.2 ± 4.3)	105.2 ± 13.9	110.9 ± 13.7 +(5.7 ± 6.0)	219 ± 12	269 ± 31 +(47 ± 23)
1/2 サビオゾール® 投与							
麻酔症例	n = 10	56.6 ± 7.8	73.4 ± 12.9 +(16.8 ± 8.1)	90.1 ± 12.9	106.5 ± 20.5 +(16.5 ± 12.6)	208 ± 31	311 ± 47 +(104 ± 32)
volunteer	n = 3	62.4 ± 9.6	85.3 ± 13.1 +(22.9 ± 11.4)	107.7 ± 16.5	132.8 ± 20.3 +(25.1 ± 12.6)	198 ± 30	320 ± 49 +(123 ± 59)

* 1/2 サビオゾールは、サビオゾール® を、乳酸加リンゲル液で 1/2 に希釈したもので、1.5% の低分子デキストランを含む乳酸加リンゲル液。
mean ± standard deviation

によって覚醒下であろうと、麻酔下であろうと、ほぼ同程度に心拍数が減少し、心拍出量の減少が認められている。すなわち、Ca⁺⁺あるいはCa⁺⁺拮抗薬が、作用する部位においても、多少の中枢神経の調節機構が関与するものであろうが、Ca⁺⁺受容器、Ca⁺⁺拮抗薬の作用は、神経調節よりもあまりにも末端であり、ひいては麻酔の影響を、ほとんど受けなかったのではないかと考えられる。むしろ麻酔薬は中枢神経系のみならず、直接酵素反応に関与することも、知られている（たとえば adenylyl-cyclase とハロセン）。しかし、NLA のように、比較的中枢神経選択的に作用する麻酔薬においては、当然のことながら、Ca⁺⁺受容器、Ca⁺⁺拮抗薬相互の作用には、ペントバルビタールによる干渉が少ないように思われた。

さらに、出血性ショック後におけるショック肺に関する研究では、Meyers ら¹⁴⁾、が麻酔下であろうと、覚醒下であろうと、肺の組織像、肺のガス交換の変化に差が認められないと報告している。

3. 今後の研究に対する対策

以上 1, 2 において述べてきたように、麻酔薬が、あるいは麻酔状態そのものが著しく、多少なりとも研究結果に影響を及ぼし、あるいは、全く影響を及ぼさない場合もある。しかし、少なくとも

も中枢神経系の調節機構を全く受けないと思われる生体内生理現象はごく一部に限られている。しかし、また非常に強く中枢神経系の調節機構の影響を受けているのも限られている。すなわち、高度の動物機能に関与する生理現象では、著しく、あるいは中程度に関与しているものであるから、麻酔状態下での研究の覚醒状態下への演繹は、不可能といえる場合もあろうし、また不可能でないにしても、非常に注意を要するものであろう。

しかしながら、比較的動物機能に関する生理学分野、あるいは神経系を除いた分子レベルに関する生理学分野においては、麻酔薬、麻酔状態が干渉を及ぼす場合は少ないように思われる。むしろ、trained animal、種々の器械を implantation した動物における覚醒下での研究は、それが神経生理学分野、あるいは行動科学 behavior science の分野でなくても大切であろう。ただし、implant した測定器械の機能変化に対する較正、動物の栄養、活動能力の変化に対する配慮など、注意すべき点も多多認められる。

このような注意を払っていても、最終的に打破することのできない難関は、種族の差異による誤謬の研究結果への介入である。この種の誤謬は、ときとしては、むしろ麻酔下、覚醒下の差によって生じる誤りよりも、大きな誤りを招来する可能性も秘めている。

最後にわれわれ麻酔科医、外科、婦人科を含む外科系医師にとっては、むしろ麻酔下での研究結果が、必要であることを強調したい。Cox¹⁾、Vatner²⁾の研究に示されるように、心血管系作動薬の作用は、麻酔状態下において、覚醒時のそれから修飾されている。

また糖負荷に対するインスリンの反応、輸液負荷に対する利尿効果など、多くの反応が覚醒時と異なっている。したがって、外科系手術時の患者管理にあたり、病棟における薬剤の作用効果を、そのまま麻酔時のそれに演繹することはできない。となれば、現在もっとも頻回に使用されている麻酔状態下での研究成績が、外科系医師の実地臨床にはもっとも有用といえよう。このような観点から、われわれは1969年から1974年頃までは、もっぱらハロセン—笑気・酸素による麻酔下で、動物実験を続けてきた。そして、それ以後はNLAを併用した笑気・酸素麻酔を、動物実験の軸軸としている。しかし、この場合でも、麻酔の導入にはバルビツレートを使用している。なんとなれば、現在の実地臨床麻酔の導入には依然として thio-pental, または thiamylal による導入が、大部分を占めているからである。

ま と め

覚醒下の動物実験の必要性は、研究せんとする生理機能が、いかに中枢神経支配を受けているか否か、という点によって決められよう。もし、その支配性が弱い場合には、あるいは、さらに酵素レベル、分子レベルの現象を目的とし、かつ麻酔薬分子直接の干渉がない限り、その必要性は、薄いものと思われる。

一方、麻酔状態下にある患者の治療にあたる外科系臨床医にとっては、麻酔下の生理、薬理の知識が必要で、そのためにもっとも一般的な麻酔下での研究の成果が、臨床応用に直結するためにも必要である。

文 献

- 1) Cox, R.H.: Influence of pentobarbital anesthesia on cardiovascular function in trained dogs. *Am. J. Physiol.* **223**: 651~659, 1972.
- 2) Vatner, S.F. and Braunwald, E.: Cardiovascular control mechanisms in the conscious state. *New Engl. J. Med.* **293**: 970~976, 1975.
- 3) Samar, R.E. and Coleman, T. G.: Measurement of mean circulatory filling pressure and vascular capacitance in the rat. *Am. J. Physiol.* **234**: 94~100, 1978.
- 4) Yamamoto, J., Trippodo, N. C., Ishise, S. and Frohlich, E. D.: Total vascular pressure-volume relationship in the conscious rat. *Am. J. Physiol.* **238**: H823~H828, 1980.
- 5) Drees, J.A. and Rothe, C.F.: Reflex venoconstriction and capacity vessel pressure-volume relationships in dogs. *Cir. Res.* **34**: 360~373, 1974.
- 6) Glick, G., Plauth, W.H., Jr. and Braunwald, E.: Role of the autonomic nervous system in the circulatory response to acutely induced anemia in unanesthetized dogs. *J. clin. Invest.* **43**: 2112~2123, 1964.
- 7) Chamorro, G., Rodriguez, J. A., Dzindzio, B. and Rapaport, E.: Effect of acute isovolemic anemia on cardiac output and estimated hepatic blood flow in the conscious dog. *Cir. Res.* **32**: 530~535, 1975.
- 8) Murray, J.F.: Venous oxygenation and circulatory responses to oxygen inhalation in acute anemia. *Am. J. Physiol.* **207**: 228~234, 1964.
- 9) Takaori, M. and Safar, P.: Adaptation to acute severe hemodilution with dextran 75 in dogs. *Arch. Surg.* **92**: 743~748, 1966.
- 10) Messmer, K., Lewis, D. H., Sunder-Plassman, L., Klövekorn, W. P., Mendler, N. and Holper, K.: Acute normovolemic hemodilution; Changes of central hemodynamics and microcirculatory flow in skeletal muscle. *Europ. surg. Res.* **4**: 55~70, 1972.
- 11) 望月與弘, 古妻嘉一, 高折益彦: 細胞外液補給における低濃度デキストラン乳酸加リンゲル液の意義——とくに体液変動を中心として——. *新薬と臨床* **19**: 273~278, 1970.
- 12) Flaim, S.F. and Zelis, R.F.: Regional distribution of cardiac output in conscious rats at rest and during exercise. Effect of diltiazem. *Chest* **78** (suppl): 187~192, 1980.
- 13) Imai, Y., Himori, N. and Taira, N.: Cardiohemodynamic effects of SK & K 24260, D600, Diltiazem, Dilazep, and trimetazidine in the dog. *Am. Heart J.* **18**: 120~131, 1977.
- 14) Meyers, J. R., Meyer, J. S. and Baue, A. E.: Does hemorrhagic shock damage the lung. *J. Trauma* **13**: 509~519, 1973.