

動物実験のコントロールに関する考察

— 各麻酔下でのイヌの循環状態を指標にして —

肥川 義雄*

はじめに

麻酔薬の血行動態に与える影響を調べるのに、麻酔科領域ではイヌを実験動物として用いることが多い。また、循環系に影響を与える薬剤の評価をしたり、特徴を調べたりするのにもイヌが利用される。しかし、その麻酔方法はさまざまであり、慢性実験犬を作成して、awakeの状態をコントロールとしているものもあれば、同じ awakeではあるが、局麻下に測定器具を装着して、それをコントロールとしているものもある。ところが、わが国で行われている実験では、何らかの麻酔薬でイヌを眠らせておいて、開胸、開腹といった大きな侵襲を加えて、循環測定器具を取り着け、これをコントロールとしている場合が多く、麻酔法の違い、加えられた手術侵襲の違い等により、コントロールの状態においてえられた測定値が、各研究施設でかなり異なっている。

そこで、イヌの麻酔によく使用されている麻酔薬、たとえば、pentobarbital や halothane 等を使用したときに、コントロールとしてのイヌの循環状態が、どうなっているかを比較し、イヌのコントロールは、いかにとるべきかについて検討してみたいと思う。そのために、用いられたイヌの種類および体重、前投薬の有無、麻酔方法および麻酔薬、測定器具装着により加えられた手術侵襲等の実験条件と、コントロール時の平均動脈圧、心拍数、心拍出量等の測定値との、比較検討を試

みる。

1. 前投薬の有無

前投薬は、ほとんど、どの研究機関でも行っていないようである。山下¹⁾は、10kg 前後の雑種成犬を使用し、halothane 5%, methoxyflurane 2% といった、はなはだしい高濃度を投与したときの生存期間をみた場合、前投薬を与えておいた群の方が、非投与群よりも長いとしており、前投薬の重要性を強調している。しかし、thiamylal で、導入した直後の循環状態は、各群間に有意な差はない。ここで問題となるのは果たしてイヌに前投薬が必要かどうか、また、それが可能なものかどうか、種類および投与量は、どうするのかということであろう。実験の内容によっては、前投薬そのものが、結果に影響を与える可能性も否定できない。また、前投薬の投与が、すべてのイヌに円滑に、かつ正確に行えるとは思えない。むしろ、イヌに前投薬を、どうするかを考える前に、ヒトの前投薬において医師の十分な説明が重要であると同様に、イヌにおいても、実験施行者が、まずイヌを安心させるべく手はずけてから、事故のないように扱い方を十分に修得する必要がある²⁾ と思う。

2. 麻酔法、麻酔薬とコントロール値

以下、表に、pentobarbital 麻酔、thiopental または、thiamylal 麻酔、halothane 麻酔、thiopental または thiamylal に halothane が加わっ

* 東京医科歯科大学医学部麻酔学教室

表 1. Control value of chronic experimental dogs

	Authors	M. A. P. (mean±S. D. mmHg)	H. R. (mean+S. D. beat/min)	Species and Body Weight(kg)	Reference Number
1	Cox	101±7.7	81.3±23	Mongrel 14~24	3
2	Merin	89.5±8.6	66.6±13.3	American foxhound 22~32	4
3	Noble	101±14	97±19	Mongrel 22~35	5
4	Barlow*	104±6	83±16	not mentioned	6
	1, 2, 3, の mean±S. D	97.9±11.6	83.1±22.5		

* Awake state under topical anesthesia

M. A. P. (Mean Arterial Pressure) H. R. (Heart Rate)

た麻酔, thiopental に morphine が加わった麻酔, により導入して循環測定器具を装着した後のコントロール値と, あらかじめ何らかの全身麻酔法で器具を装着した慢性実験犬の awake の循環状態を示す. 同じ麻酔薬でも, 研究機関での実験の set up に対する習熟による技術の差, 手術侵襲の違いにより, 一様に評価することは困難だが, 今回は技術の差はないものとして, コントロール時での平均動脈圧, 心拍数を指標にして, イヌの種類および体重, 加えられた手術侵襲の項目を加えて比較してみる. まず, はじめに慢性実験犬の awake の状態でのコントロールを示し, これと, 他の麻酔薬を使用した群とを比較してみたい.

表 1 は, 慢性実験犬の awake の循環状態である. 残念ながら, わが国のデータがみつからなかったもので, 止むなく外国の文献のみからえたものである. Merin 以外は, 雑種成犬であるが, 体重はわが国の雑種成犬にくらべて大きい. しかし, awake の状態で, 体重と心拍数の関係をみた下の表 2 を参考にすると, わが国のイヌの大体の循環状態が, 推測されるのではないかと思う. なお, Barlow のデータは, 上の三者とは条件が異なり, 慢性犬ではなくて, 局麻下で大腿動脈よりカテーテルを入れて, awake で測定した値である. Barlow 以外の三者のデータの平均動脈圧は, 97.9 ± 11.6 (S. D.) mmHg, 心拍数 83.1 ± 22.5 (S. D.) beat/min である. 以下に述べる, 比較対象となる慢性実験犬のデータは, 上記の値を使用する. これと, Barlow のデータでは平均動脈圧が,

表 2. The relation between body weight and heart rate

Body Weight (kg)	Heart Rate (beat/min)
5	105~125
9.6	96
20	85

Barlow の方が有意に高く ($P < 0.05$) 心拍数は有意差がない.

表 3 は, pentobarbital 25~30mg/kg 静注のもので, 記載のような手術を行った後の循環の状態である. ここで注意しなければならないのは, pentobarbital そのものが循環系に, さまざまな影響を与えるということである. pentobarbital 投与による平均動脈圧の変化は, いろいろな報告があるようで, これは後で再び述べるが, 心拍数に関しては, 上昇するとするものが多いようだ^{3, 6, 13~15}. 表 3 で心拍数が, 慢性実験犬に比して有意に ($P < 0.001$) 多いのは, pentobarbital そのものの影響なのか, または, 鎮痛作用がないといわれている barbiturate を使用して手術を行ったために, イヌが痛がっていることによるものなのか, または, その両方によるものなのかは不明である. いずれにしても, 表 3 は, hyperdynamics な状態をコントロールとしているといえるだろう. なお, この表の中で, 若山は, pentobarbital 30 mg/kg を静注し, 右大腿動脈と頸静脈にカテーテルを入れた時点でのコントロール値と, さらに開

表 3. Control value under pentobarbital (25~30mg/kg) anesthesia

	Authors	M. A. P.	H. R.	Species and Body Weight	Procedure	Reference Number
1	Takahashi	126.9±19.1	132.8±12.4	Mongrel 9~15	thoracostomy 3catheters in vessels	7
2	Fukuda	122.4±10.2	140±18.4	Mongrel 8.2~16.8	4catheters in vessels	8
3	Wakayama	140.4±21.0	139.4±18.3	Mongrel 8~30	3catheters in vessels	9
3'		↓ 145.7±22.8	↓ 148.9±26.9		↓ thoracostomy flow-meter probe to renal artery	9
4	Kosugi	140.8±18.7	169.0±13.9	Mongrel 11.5~15.5	4catheters in vessels	10
5	Kakazu	151.3±9.7	139.7±12.5	Mongrel 8~13.5	laparotomy 4catheters in vessels	11
6	Smith	133±20.4	171±28.1	Mongrel 23~28	thoracostomy 4catheters in vessels	12
	1~6 mean±S.D	131.3±18.1	146.4±23.1			

腹し腎動脈に電磁血流計を装着した後の循環状態を比較し、後者は増加傾向にあるが、前者に比して有意な上昇はしていないことを示し、この量のpentobarbitalで、開腹にも十分であると思われるデータを提供してくれている。しかし、この状態をコントロールとして、薬剤投与による循環の変化をみた場合と、awakeの状態と同じ薬剤を投与したときの変化とでは、当然結果が異なる場合が起こることが予想でき、この点については、熊

沢¹⁶⁾らも指摘のとおりである。われわれの教室で行ったある実験では、secobarbital 25mg/kgを静注し、開胸し測定器具を装着して後のコントロール値が、平均動脈圧 123.9±20.52 (S. D.) mmHg, 心拍数 147.9±29 (S. D.) beat/minであり、表3と有意差のない結果であることを認めている。

表4は同じbarbiturateではあるが、作用時間の短いthiopentalまたは, thiamylalを使用した場合のコントロール値である。両者とも pento-

表 4. Control value under thipental or thiamylal anesthesia

	Author	M. A. P.	H. R.	Species and Body Weight	Procedure	Reference Number
1	Imai	107.8±39.6	147.8±29.7	Mongrel 6~13	thoracostomy 4catheters in cardiovascular	17
2	Amano	90±22.8	178±31	Mongrel 12~20	2catheters in vessels	18
3	Yoshida	169±46.7	167±23.7	Mongrel 8~15	2catheters in vessels	19
4	Sato	$\frac{136 \pm 11^*}{87 \pm 6}$ (mean=104)	154±9	Mongrel 11~16	thoracostomy flow-meter probe to aorta 2catheters in vessels	20
5	Nabeshima	$\frac{190 \pm 30.8^*}{135 \pm 20.7}$ (mean=153)	168±15	Mongrel 7~19	thoracostomy catheter in pulmonary artery	21
	1~5 mean±S.D		160.4±24.9			

* Systolic P.
Diastolic P.

表 5. Control value under halothane anesthesia

Author	M. A. P.	H. R.	Species and Body weight	Procedure	Reference Number
Prino	108±13.9	96±17.3	Mongrel 7~19	2catheters in vessels	13

表 6. Control value under thiopental or thiamylal plus halothane anesthesia

	Authors	M. A. P.	H. R.	Species and Body Weight	Procedure	Reference Number
1	Yusa	108.0±11.9	130±30.9	Mongrel not mentioned	thoracostomy flow-meter probe to aorta and coronary artery 4catheters in vessels	25
2	Saito	119.2±43.7	124.7±26.5	Mongrel about 15	thoracostomy bypass from car-tid a. to coronary a. 2catheters in vessels	26
	1 and 2 (mean±S. D.)	124.1±30.4	145.3±36.6			

barbital と同様に、循環系への影響が強い薬剤であり²²⁾、作用時間が短いためか、または、心拍数を増加させる作用が強くなったためか、pentobarbital 麻酔のときより心拍数は多いようである ($P < 0.001$)。

表 5 は、halothane を導入に使用したときのコントロール値である。最初から halothane で導入し、循環系の測定器具を装着した状態をコントロールとしたものは少ないようで、Prino¹³⁾ も 6% の halothane で導入し、2% で手術操作を 15 分以内に終え、halothane を切り、30~45 分待ち、イスが舌を動かすくらいに覚醒した状態をコントロールとしている。この Prino のデータと、慢性実験犬のコントロール値のあいだには、心拍数は変わらないが、平均動脈圧は有意差がある ($P < 0.05$)。なお、宮内²³⁾、松本²⁴⁾ は、halothane 1~2% で導入し、手術操作を終え 0.2~0.3% にした状態をコントロールとしているが、平均動脈圧に関しては、両者とも Prino のデータと有意差はない。なお、halothane に関しては、つぎの表 6 に関連して述べる。

表 6 は、thiopental または、thiamylal で導入し、halothane で維持しながら手術操作を行った後の循環状態である。表 4 の thiopental または thiamylal だけのものよりも、明らかに心拍数は減少している。 ($P < 0.05$)。これは、やはり少し痛みが和らいだことによると思われるが、halothane

は心拍数を減少させる²⁷⁾とするものや、循環系の反射を抑制する²⁸⁾とするものがあり、鎮痛のためばかりではないものと思える。volunteer を使った研究では²⁹⁾、halothane は最初は心拍数を変化させないが、時間が長くなると、心拍数を増加させる作用があるということで、set up までに時間を要する実験や、長時間の実験では考慮に入れる心要があろう。また、halothane 麻酔で問題となるのは、その使用濃度と、運搬するガスの種類である。使用濃度については、吉田²⁰⁾ は、halothane の血中濃度が 5~10mg/dl のあいだでは、末梢血管抵抗は、むしろ増加傾向にあるとしており、0.5% というのが、ほぼこの領域にあり、実験結果の判定のうえで注意を要する。また、halothane を運搬するガスが O_2 か、 $N_2O + O_2$ かでも、 N_2O そのもののもつ循環系への影響³⁰⁾ のために、実験結果に影響を与える可能性があるうえ、 F_{IO_2} の違いによる循環系への影響もあり、halothane を使用したときのコントロール状態は、非常に多くの要素が関係し合っていることを、念頭においておく必要がある。

その他、いろいろな麻酔薬を組み合わせた方法があり、鎮痛を目的としたものと考えられるのが、表 7 の thiopental に morphine を加えたものである。これも、thiopental だけのものに比して心拍数は下がっていて、halothane が加わったのと同様に、痛みが和らいだためだろうことが予想され

表 7. Control value under thiopental plus morphine anesthesia

Author	M. A. P.	H. R.	Species and Body Weight	Procedure	Reference Number
Saito	105±10.4	118.3±12.8	Mongrel 12~20	thoracostomy flow-meter probe to aorta and coronary artery 2catheters in cardio-vascular	31

表 8. Control value under topical or halothane anesthesia

	Author	M. A. P.	H. R.	Species and Body Weight	Procedure and Condition of Dog	Reference number
A	Prino	108±13.9	96±17.3	Mongrel 7~19	2catheters in vessels under halothane anesthesia nearly awake	13
B	Barlow	104±6	83±16	not mentioned	2catheters in vessels under topical anesthesia e awake	6

る。しかし、morphine の循環系への影響も、さまざまな報告があり、複数の麻酔薬の同時使用によるコントロール値は、実験結果の評価のうえで、問題となる可能性がある。

3. コントロール状態と実験結果のギャップ

熊沢¹⁶⁾は、halothaneの循環への影響を評価するにおいて、Smithの結果と比較し、心拍数の変化について、全く逆の結果を生じたのは、コントロールでのイヌの状態が、Merinらのは、awakeであり、Smithのはpentobarbitalを静注した後のためであるとしている。こういう例は、他にも数多くあると思われるが、pentobarbitalの循環への影響が、全く逆の結果としてでてくる報告があるので紹介する。

表8では、加えられた侵襲は同じであるが、コントロール状態でAの方が、やや心拍数が多い($P < 0.05$)。しかし、平均動脈圧には有意差はない。

表 9. After pentobarbital I. V.

	Author	M. A. P.	H. R.
A'	Prino	95±13.9 ↓	157±17.3 ↑
B'	Barlow	134±21 ↑	149±25 ↑

表9は、表8の状態に、pentobarbital 30mg/kg

を静注した後の各パラメーターの変化である。コントロールの状態では、A、Bのあいだに循環状態に大きな差はない。しかし、pentobarbitalに対する反応が、Aでは平均動脈圧が下がるのに対し、Bでは上昇するという結果がでてくる。この原因は何にあるのだろうか。この二者のコントロール状態は、熊沢のいうような一方が、hyperdynamicsな状態で、もう一方が安静 awake の状態というように、コントロールの時点で、すでに循環状態が大きく違っているということはない。やはり、この結果の違いは、コントロール状態をえるに至ったプロセスの違いによるものと思われる。コントロール状態は、データ上一見して、ほとんど差がないように思えても、一方は、halothane麻酔によるもの、もう一方は局麻下によるストレスが、隠れた部分に潜んでいたのかもしれない。そして、おのおのコントロール状態からの反応は、それぞれ正しい反応であったのであろうから、Aのデータだけからpentobarbitalは血圧を下げるということもできないし、また、Bだけから逆に血圧を上昇させるということも一概にはいえない。

おわりに

麻酔薬の循環系への影響、循環系薬剤の評価等は、volunteerを使って行うのが、もっともよいことだと思う。しかし、より詳しい情報をえるには、さまざまな測定器具を、生体に取り着けな

ればならず、かといって、volunteer に許される侵襲というものは限られており、どうしても、実験動物が必要になってくる。そして、いかにしたら目的とする実験のために、よいコントロールをえることができるかを、考える必要にせまられる。多くの研究者が、コントロールは、いかにあるべきかで悩み、実験結果の判定には、コントロール状態の把握が、大切であるという報告は多いようである。また、麻酔された動物は、全く正常な状態とは違うため、それをコントロールとしてえた実験結果は、正常な状態に対する反応とは何の関係もないとし、コントロールは、awake状態 でなければならないことを強調する人¹³⁾もある。コントロール時での循環の状態が、データ上同じようだからといって、麻酔薬に対する反応が、全く異なるものがあることは、前述のとおりで、コントロールが異なる循環状態にあれば、薬剤への反応が異なるであろうことは、誰しも想像できることだろう。

そこで著者は、コントロールのあり方について以下のように考える。

麻酔薬と循環系に影響を与える薬剤の評価において、基本姿勢として、それが実際の臨床で投与される状態に近い状態を、コントロールとすべきだと思う。そして、麻酔薬の影響をみる場合には、他に何らかの麻酔薬の投与されていないawakeの状態をコントロールとし、それから薬剤の投与による変化をみる必要がある。小さな侵襲だけで実験が行なえるなら、局麻を用いて行うことが可能かもしれないが、開胸、開腹、といった大きな侵襲を加えなければならないときには、慢性実験動物の作成が、必要になってくるのではないだろうか。

つぎに、循環系に影響を与える薬剤の評価について、それが臨床で、実際に使われるような状態での使用となると、麻酔科領域では、循環動態が、麻酔薬や手術侵襲により正常とはずいぶんと異なった状態で、使用することが多い。したがって、動物実験においても、循環動態が、麻酔薬および加えられた手術侵襲により、どのように変化したものをコントロールとしているのか、ということが明確であれば、その状態での薬剤の影響という形での評価が可能である。この点が、麻酔薬の影響

をみる実験と異なるところであろう。循環の実験のなかで、コントロール時の循環状態の生の値を示すことなく、薬剤投与後の変化率のみを、論じているものがあるが、いま一度、コントロール状態の見直しが、必要ではないだろうか。

いかなるコントロールがよいかについて具体的な結論を出しえなかったが、このシンポジウムをとおして、よりよいアドバイスを期待する。

文 献

- 1) 山下淳平, 岡村 宏: Premedication に関する研究, 特に Fluothane 及び Penthrane 麻酔について. 麻酔 20 : 279~288, 1971.
- 2) J. Malcolm Hime: The Dog, Churchill Livingstone: The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals, UFAW, Edinburgh and London, 309~327, 1972.
- 3) Robert H. Cox: Influence of pentobarbital anesthesia on cardiovascular function trained dogs. *Am. J. Physiol.* 223(3) : 651~659, 1972.
- 4) Robert G. Merin, Teruo Kumazawa, Norman L. Luka: Myocardial function and Metabolism in the Conscious Dog and during Halothane Anesthesia. *Anesthesiology* 44 : 402~415, 1976.
- 5) Mark I. M. Noble, Diana Trenchard, Abraham Guz: Left Ventricular Ejection in Conscious Dog. *Circulation Res.* 14 : 139~147, 1966.
- 6) George Barlow, David H. Knott: Hemodynamic alterations after 30 minutes pentobarbital sodium anesthesia in Dog. *Am. J. Physiol.* 207(4) : 764~766, 1964.
- 7) 高橋光太郎, 嶋 武, 古賀義久, 岩月賢一: Ketamin Hydrochloride (Ketalar®)の肺循環動態に及ぼす影響. 麻酔 20 : 842~846, 1971.
- 8) 福田 豊, 福原富雄, 山田省一, 松崎和巳, 吉副健雄, 横山秀雄: 出血性ショック時における dexamethasone の静脈還流量への影響について. 麻酔 24 : 1243~1253, 1975.
- 9) 若山茂春: エンドトキシニンショック時の dopamine の腎機能および内分泌腺に及ぼす影響. 麻酔 27 : 684~692, 1978.
- 10) 小杉 功, 北垣照夫, 高木由美子, 権田照代, 岡田和夫: ショック時の酸素供給に関する研究——ショック時の酸素解離曲線と還元型グルタチオンの効果——. 麻酔 28 : 922~928, 1979.
- 11) 嘉数昇康, 牧野義文, 由島一郎, 友成正路, 山田省一, 石井脩夫: Shock 腎に対する renal perfusion method 特に dopamine の効果について. 麻酔 28 : 1039~1045, 1979.
- 12) G. Smith, J. P. Vance, D. M. Brown, J. C. McMillan: Changes in canine myocardial blood flow and oxygen consumption in response to halothane. *Brit. J. Anaesth.* 46 : 821~826, 1974.

- 13) L. L. Prino, D. L. Traber, R. D. Wilson: Barbiturate anesthesia: An abnormal physiological situation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **165**: 126~135, 1969.
- 14) J. P. Gilmore: Pentobarbital sodium anesthesia in the dog. *Am. J. Physiol.* **209**(2): 404~408, 1965.
- 15) Frederick Olmsted, Irine H. Page: Hemodynamic changes in dogs caused by sodium pentobarbital anesthesia. *Am. J. Physiol.* **210**(4): 817~820, 1966.
- 16) 熊沢光生, 池園悦太郎: 犬の心行動態に与える halothane の影響——動物実験における control に関する考察——. 麻酔 **27**: 1431~1436, 1978.
- 17) 今井孝祐: 実験的 endotoxin shock 時の心機能の研究. 麻酔 **24**: 552~561, 1975.
- 18) 天野道之助, 山本道雄, 嶋田幸三, 多田 穰, 田中泰博, 平松慶博, 福井岩生, 滝口 守: Penthrane 麻酔の循環動態. 麻酔 **14**: 265~269, 1965.
- 19) 吉田 剛, 大鹿道子, 西田明子, 後藤康之, 大野和熙, 古川幸道: フローセン麻酔時の血行力学的研究. 麻酔 **14**: 575~585, 1965.
- 20) 佐藤哲雄, 藤田達士: Carbetapentane citrate 静注時の循環系に及ぼす影響と臨床応用. 麻酔 **19**: 1255~1261, 1970.
- 21) 鍋嶋誠也: 左右循環動態に及ぼす麻酔薬の影響. 麻酔 **27**: 269~277, 1978.
- 22) Donald C. Sawyer, William V. Lumb, H. L. Stone: Cardiovascular effects of halothane, methoxyflurane, pentobarbital, and thiamylal. *J. Appl. Physiol.* **30**(1): 36~43, 1971.
- 23) 宮内文久, 石川敏三, 武下 浩: Propanidid の脳酸素消費量に及ぼす影響. 麻酔 **22**: 649~656, 1973.
- 24) 松本忠美: Halothane および diethylether の中枢作用に関する研究. 麻酔 **23**: 1311~1318, 1974.
- 25) 遊佐津根雄, 西岡克郎, 岩月賢一: POR-8 (ornithin 8-vasopressin) の冠循環動態に及ぼす影響. 麻酔 **20**: 598~604, 1971.
- 26) 斎藤隆雄, 坂田正策, 岡崎亀義, 富野武人, 太田憲宏, 殿谷隆一: 冠循環から見た代用血漿剤——(1) Hydroxyethyl starch (HES)——. 麻酔 **25**: 29~34, 1976.
- 27) R. Hughes: The hemodynamic effects of halothane in dogs. *Brit. J. Anaesth.* **45**: 416~421, 1973.
- 28) Peter C. Duke, Douglas Fownes, John G. Wade: Halothane Depress Baroreflex Control of Heart Rate in Man. *Anesthesiology* **46**: 184~187, 1977.
- 29) Edmond I. Eger, Norman Ty Smith, Robert K. Stoelting David I. Cullen, Leslie B. Kadis: Cardiovascular Effects of Halothane in Man. *Anesthesiology* **32**: 396~409, 1970.
- 30) W. E. Martin, F. G. Freund, T. F. Hornbein, J. J. Bonica: Cardiovascular Effects of Halothane and Halothane-Nitrous Oxide Anesthesia during Controlled Ventilation. *Anesthesiology* **30**: 346, 1969.
- 31) 斎藤隆雄, 岡崎亀義, 田中重三, 太田憲宏, 坂田正策, 保岡正治: 心活動および冠循環におよぼすフロロマーの影響. 麻酔 **23**: 395~401, 1974.