

内視鏡システムを用いたマウス吸入麻酔とそのモニタリング

平成 24 年 5 月 22 日受付

今野 兼次郎
京都産業大学総合生命科学部

小川 哲平
夏日製作所株式会社

畠山 美香
株式会社 AVS

板野 直樹
京都産業大学総合生命科学部

要 旨

マウスは世界中で最も多用されている実験動物である。また、様々な研究分野で用いられており、脈管系の研究でも使用されている。しかしながら、体サイズが小さい事が一因となって、安全な麻酔を施すための器具や装置、技術などの開発が十分でない。特に、ヒトや小動物臨床で一般的な吸入麻酔、とりわけ気管チューブの挿管を要する吸入麻酔の導入が大きく遅れている。それを改善すべく、最近、内視鏡技術を応用したマウスへの気管チューブ挿管システムが開発された。そこで、今回、そのシステムと、マウス用人工呼吸器を用いた吸入麻酔を行い、その実用性を検討した。その結果、挿管するための前処置（薬剤投与）に関しては再検討を要する可能性が残るものの、今回使用した機器を導入する事で、マウスに対して安全な吸入麻酔を施せる可能性が示唆された。

キーワード：内視鏡システム、吸入麻酔、マウス、モニタリング、動物愛護

Abstract

Mice are laboratory animals currently most used abundantly all over the world. And they are used for various research areas including the vascular system. However, their body size is very small so that intubation of the tracheal tube to the small animals is very difficult and development of the apparatus for the safety anesthesia is not enough.

Recently, for mouse, the tracheal tube intubation system using endoscope technology was developed and sold. So we evaluated the system using inhalation anesthetized mice and the vital

monitoring system. The endoscope system made the intubation so easy and safety, and their vital signs suggested that the ventilator made the inhalation anesthesia safety.

Keywords : endoscope system, inhalation anesthesia, mouse, monitoring, animal welfare

1. はじめに

「Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (邦題 実験動物の管理と使用に関する指針第8版)」[1, 2] が2010年に14年ぶりに改訂された。今回で第8版であるが、これは米国科学アカデミー National Research Council が作製したものであり、その内容は、米国内の動物実験に関わる研究者や技術者、施設管理者はもとより、実験動物の管理と使用に関するガイドラインとして国際的にも認知されている。日本国内でも、その概念は各省庁基本指針や日本学術会議による「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン (2006年)」にも反映されている。今回の改訂で大きく変更のあった箇所の1つが「獣医学的ケア」で、これまでよりも動物個体毎の管理をより一層充実させるべきとの意図が感じられる。日本においても、上記ガイドラインと共に、2005年に動物の愛護及び管理に関する法律(動物愛護管理法)が改訂され、動物愛護精神の普及が進んでいる。特に、実験動物3R (Replacement, Reduction, Refinement) が年々認知されてきている。しかしながら、欧米に比べ、実験動物分野における個々の動物に対する愛護精神の実践は、決して十分とは言えず、むしろ遅れていると言っても過言ではない。

動物実験を行う際に最も配慮が必要となるものの1つが、苦痛の軽減である。多くの動物は、我々ヒトと同様、神経系を持ち苦痛を感じる。特に哺乳類は高度に発達した神経系を有し、肉体的だけでなく、精神的にも社会的にも苦痛を感じる。こう言った事を念頭に、動物実験を行うように上述のガイドラインが策定されている。

また、近年、生命科学は目覚ましい発展を遂げているが、それを支えている1つが動物実験である。我々の健康がこれらの動物によって支えられているが、その中でもマウスが最も多く使用されている。マウスは小型で比較的飼育が容易である。また、妊娠期間が20日前後であり、他の実験動物と比して多産と言う実験動物としての長所を有する。そして、様々な系統が存在し、一部の系統ではES細胞が樹立されているために遺伝子改変動物が非常に多種多様かつ多数作製されており、解析ツールも豊富な事から、現在、実験動物として世界中で最も多く使用されている [3, 4, 5]。これらの長所を活かして、マウスは、細胞や組織の採材に始まり、臓器、そして行動に関する研究など様々な研究分野で使われている。

こう言った状況で、マウスはライフサイエンス、特に医学研究の分野でも大きく発展に寄与してきた。その過程で、非常に多くのマウスが苦痛を伴う処置を受けてきたが、それを少しでも軽減する手段の1つが薬剤を用いた鎮痛や麻酔の処置である。これまで、マウスでの麻酔法

は注射麻酔が一般的であり、様々な方法が報告されている [3, 4, 5, 6]。一方、マウスへの吸入麻酔も報告されており、近年では実用化されているが、マスクを用いた吸入麻酔が一般的で、人工呼吸器を用いた吸入麻酔は殆ど実用化されていない。そのため、麻酔深度が浅く外科処置時に痛みを伴ったり、麻酔深度が深くなり過ぎて呼吸停止による死亡事故などのリスクが常に伴う。

しかしながら、ヒトや獣医領域における小動物臨床（主にイヌやネコ）では、全身麻酔は人工呼吸器を用いた吸入麻酔が一般的である。現在、ヒトや動物の臨床現場で用いられている麻酔薬のうち、多くの吸入麻酔薬は注射麻酔薬に比べて高価であるが、麻酔時に必要となる睡眠、鎮痛、筋弛緩の作用が強く、吸入を止めると比較的急速に麻酔状態から回復出来るなど、理想的な麻酔薬である [3, 5, 6]。これを支えているのが、吸入麻酔薬を安全に使用するための麻酔装置の開発や人工呼吸器の開発と普及である。吸入麻酔において特に問題となるのは麻酔深度の調節であるが、それをコントロール出来る吸入麻酔器（気化器、人工呼吸器、麻酔回路）が開発され、普及している。これまで、私は実験動物としてのイヌやミニプタを用いた外科的処置を伴う実験を行ってきたが、前投与を除いて、すべて人工呼吸器を用いた吸入麻酔下で外科処置を行い、その安全性を実感してきた [7, 8, 9, 10, 11]。

一方、これまで小型の実験動物では、ラットにおいては気管挿管は実施されてきた [3, 5, 6]。しかしながら、マウスの体サイズは、概ねラットの 1/10 であり、この体サイズが原因で、ラットのような処置をマウスに施す事が困難であったり、正確かつ安全な麻酔の器具や装置を開発するのが困難となり、マウスへの人工呼吸器の導入が遅れている。

また、麻酔に際して人工呼吸器の導入と同時に重要なのは、動物の健康状態を常時監視し、動物の健康状態の応じて臨機応変に対処する事である。マウスの健康状態を把握するためのパラメータは、動脈血酸素飽和度 (SpO₂)、心拍数 (Heart Rate; HR)、呼吸数 (Breath Rate; BR) などの情報で、総じて Vital Sign と呼ばれる。動物実験を実施する際には、この Vital Sign を監視する事が重要となる。この事は、上述の「Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (邦題 実験動物の管理と使用に関する指針 第 8 版)」にも記載されている（「For anesthesia delivery, precision vaporizers and monitoring equipment (e.g., pulse oximeter for determining arterial blood oxygen saturation levels) increase the safety and choices of anesthetic agents for use in rodents and other small species. (一部抜粋)」)。

そこで、本実験では、マウスが出来るだけ苦痛を伴わず、動物愛護の精神に則った理想的な麻酔方法を開発する事を目的として、最近発売されたマウス気管チューブ挿管用の内視鏡システムと、それを用いた吸入麻酔の有用性の検討を行った。

2. 材料と方法

本実験では、C57BL/6 マウスのオス 7 匹（体重：26.4 ～ 29.4g、週齢：15 週）を用いて行っ

た。

(1) マウスへの前処置

気管チューブの挿管には、マウスの鎮静と適度な筋弛緩が必要となる。そこで、本実験では、現在、世界中でマウスへの麻酔処置において、最も多用されている麻酔薬の1つであるペントバルビタール（製品名：ソムノペンチル）を用いる事とした [3, 5, 6]。ただし、ペントバルビタールは、安価で比較的取り扱いが楽であるが、心機能や呼吸の抑制効果があり、鎮痛効果も弱い。そこで、今回の実験では、迷走神経抑制効果を有し、心機能の抑制防止や、気管内や唾液腺からの分泌抑制効果の目的で硫酸アトロピンを併用した [3, 5, 6]。

そこで、まず滅菌生理食塩水で 50 倍希釈した硫酸アトロピン（商品名：アトロピン硫酸塩 0.5mg、田辺三菱製薬）を 0.04mg/kg 右腹部に腹腔内（*i.p.*）投与し、続いて左腹部に滅菌生理食塩水で 10 倍希釈したペントバルビタールを 40mg/kg *i.p.* 投与した。

(2) マウスへの気管チューブの挿管

マウスの気管チューブの挿管に際しては、内視鏡技術を応用した「AVS 細径内視鏡システム TESALA〈テサラ〉AE-C1」（図 1）を使用して挿管を試みた。内視鏡システムを用いる際に、光源と映像を得るための細径内視鏡用のプローブは 3 種類用意したが、すべて軟性タイプのも

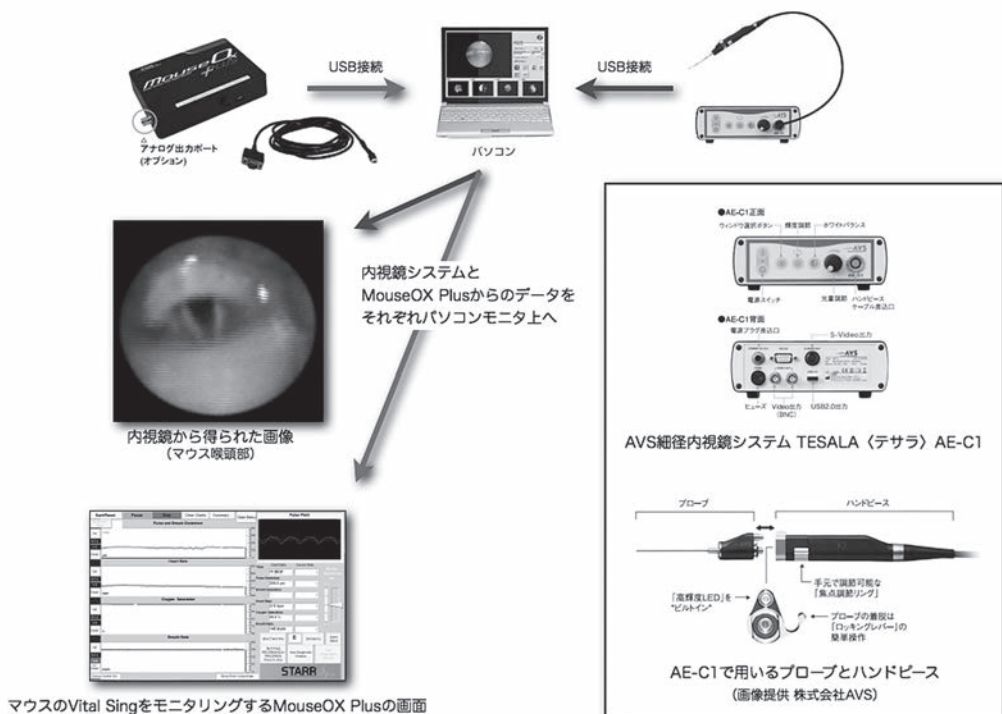


図 1 マウス吸入麻酔に用いたシステムの全体像

のであった。外径が0.5mmで有効長が55mmの「AE-F05055」と76mmの「AE-F05076」、外径が0.7mmで有効長が70mmの「AE-F07070」、の3種類を用意した(図2)。一方、マウスの気管チューブは、夏目製作所製の直径1.1mm、長さ48mmのもの(ピンク色)と、直径0.9mm、長さ32mmのもの(水色)を使用した(図2)。

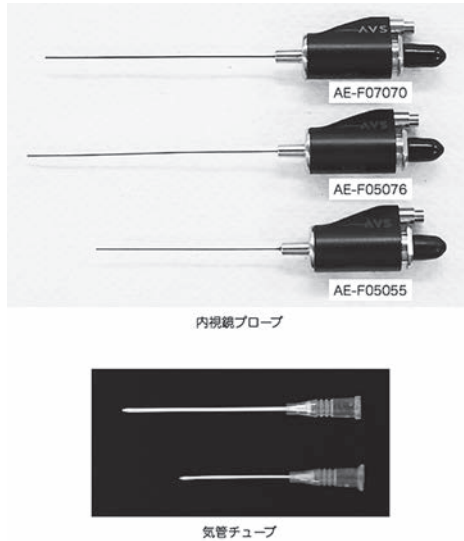


図2 細径内視鏡用プローブと気管チューブ

(3) 挿管の手順

1. 前処置を施したマウスを挿管台(夏目製作所製)に保定し、口腔を上下に拡げるため、上額前歯にタコ糸を引っ掛け重りをつけた(図3)。これと共に、喉頭鏡を用いて開口し、挿管中に閉口しないように喉頭鏡を適切な位置に固定した。



図3 前投与後に挿管台に保定したマウス

2. 気管チューブ内に内視鏡プローブを通し、プローブ先端の位置を調節する。それと共に、チューブを挿管し過ぎて気管支を傷つけてしまわないように、何処まで気管チューブを挿管すると気管支に到達するかも事前に確認しておく。

3. TESALA AE-C1 本体の電源を入れるとモニター上にプローブからの映像が映し出されるので、輝度やホワイトバランスに関しては本体で、フォーカスに関してハンドピースにある焦点調節リングで調整する。なお、本体の電源を切った後には、必ずこの調節が必要となるので注意を要する。

4. PC 画面上に映ったプローブからの画像を観察して、喉頭ならびに喉頭蓋の位置や形態を確認しながら、気管内へと挿管した。

なお、本実験では、内視鏡プローブから得られた画像を記録するため、TESALA 本体背面にある S-Video 出力ポートと、ノートパソコン(パナソニック製 Let's note CF-J10RYAHR)の USB ポートを GV-USB2 (I-O Data 製)で接続した(図1)。内視鏡プローブからのアナログ画像データをデジタル画像データに変換し、付属アプリケーション「Light Capture」を用いてノートパソコンのモニター上に映し、これを Windows 用フリーウェアの AG-デスクトップレコーダーを用いて動画としてノートパソコンに記録した。

5. 気管チューブ挿管の成否は、次の基準にて判断した。気管内に挿管出来た際には、呼気および吸気が通過する気管が蛇腹状に確認出来る（図4）。一方、食道は内容物が無ければ、ほぼ狭窄しており、食道へ誤挿管すると、プローブ先端に食道粘膜が密着し、視界を妨げる（図4）。これらのポイントから気管チューブの気管内挿管の成否を判断した。

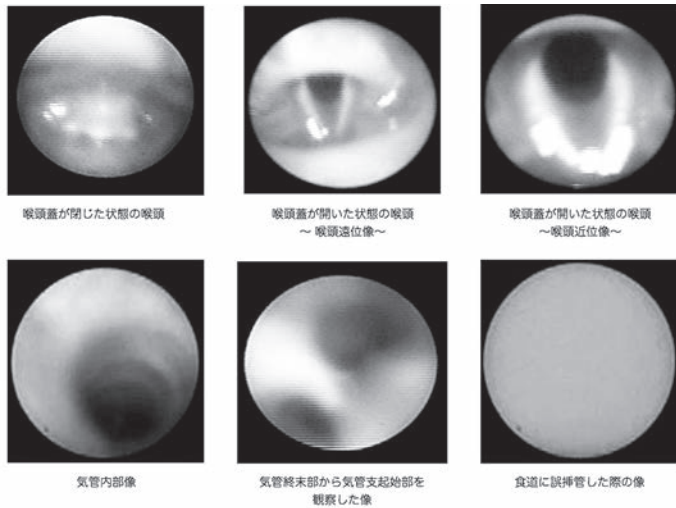


図4 内視鏡プローブから得られた画像とその判断基準

6. プローブからの画像にて気管内挿管が成功したのを確認後、気管チューブ先端の位置を確認した。この際、先端が左右どちらか一方の気管支に入っていない事を確認すると共に、気管チューブによる気管の障害や圧迫などの有無も併せて確認した（図4）。

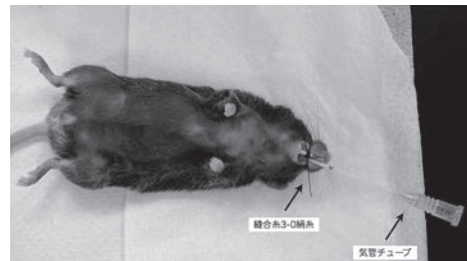


図5 気管チューブの固定

7. その後、挿管台からマウスを降ろし、気管チューブが動かないように、縫合糸3-0絹糸を用いて上顎に固定した（図5）。

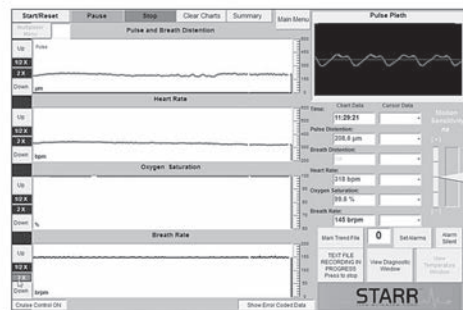


ヒーターマットで加温しながらMouseOX PlusでVital Signを測定中のマウス

(4) マウス Vital Sign の測定と記録

気管チューブ挿管後には、ヒーターマット（夏目製作所製 KN-475）上に寝かせて加温した。この状態で、マウスの生体状況をリアルタイムで確認・記録出来る MouseOX Plus を用いて、SpO₂、HR、BR の各種 Vital Sign（生命徴候）を測定し、1秒毎のデータを記録した（図6）。

実際の測定方法であるが、小動物電気バリカン（夏目製作所製 2000AD）（図7）を用いて頸部を剃毛した後、マウス頸部にクリップセンサー（図7）を装着し、上記項目を計測ならび



MouseOX Plusの結果表示画面

図6 MouseOX Plus を用いた Vital Sign 測定

に記録した。また、体温に関しては、TW2 (ThermoWorks, Inc.) を用いて随時測定した。

なお、本機器の原理であるが、発光ダイオード (LED) により赤色光
 ■ 赤外光を計測部位組織に透過させ、フォトダイオードで検出 (透過型) している。



図 7 小動物用電気バリカンと MouseOX Plus センサー

(5) 人工呼吸器を用いたマウスの吸入麻酔

吸入麻酔器は気化器・麻酔回路・人工呼吸器の3つから構成されるが、気化器および麻酔回路に関しては、VETEQUIP社製のげっ歯類用麻酔システム RC2を用いた (図8)。これに夏目製作所製のマウス・ラット等小動物実験用人工呼吸器 SLA Ventilator (図8) を接続し、人工呼吸を行った (図9)。

なお、人工呼吸器の設定は次の通りである。回路内流量は純酸素 250mL/分、呼吸数 (Breath per minute; BPM) 150回/分、吸気時間の割合を示す「I: (I+E)」を50%に設定した。常時気道内圧もモニタリングし、気道内圧が1500paを越えた場合に警報が作動するようにセットした。

ペントバルビタール 40mg/kg の投与ではマウスの自発呼吸が残っているため、人工呼吸器で呼吸をコントロール出来るように高濃度のイソフルランを一時的に吸入させる事により筋弛緩させ、自発呼吸を停止あるいは強度に抑制

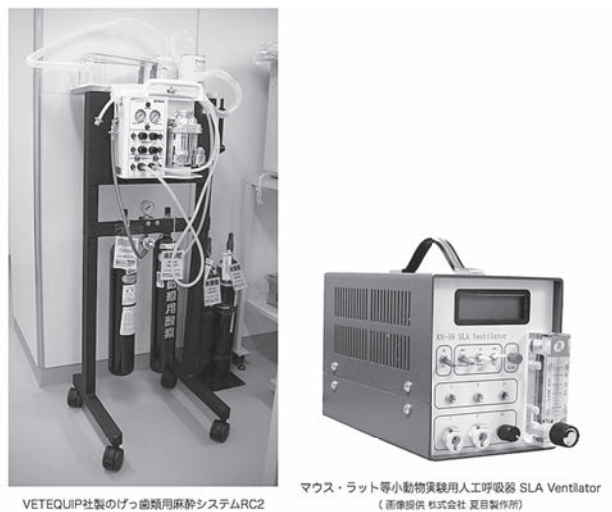


図 8 VETEQUIP 社製げっ歯類用麻酔システム RC2

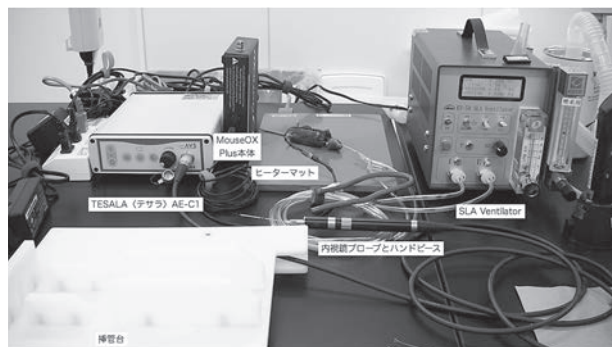


図 9 マウス吸入麻酔に用いた各種機器および器具

させる必要がある。そこで、まず自発呼吸を消失させるために、吸入麻酔器に接続後、最初の1分間はイソフルランを純酸素をキャリアガスとして5%で吸入させた。それ以降は、自発呼吸の消失を確認後、2%で麻酔を15分間維持した。イソフルランの吸入停止後は、一定時間、純酸素のみで人工呼吸を施し、マウスの状態を確認しながら自発呼吸が戻ってきた時点で麻酔回路から外した。自発呼吸が戻り、SpO₂の値も正常値に近付いた時点で最終的に抜管した。

また、マウスへの気管挿管終了後から覚醒までは、マウスの体温低下を防止する目的でヒーターマット（図9）上で麻酔を維持したが、TW2（ThermoWorks, Inc.）を用いて随時、胸部の体表温を測定する事で低体温症にならないよう注意を払った。

3. 結果

細径内視鏡用のプローブを3種類を用意したが（図2）、画像の鮮明さやプローブの細さ、腰の強さなど、総合的に判断し、特に画像が鮮明だったAE-F07070が最適と判断し、これのみを用いた。AE-F05055とAE-F05076に関しては、輝度がやや強過ぎて、AE-F07070よりも少々画像が見づらい傾向があった。

また、本実験で用いたマウスの体重は26.4g～29.4gであったが、気管の内径は1mm前後である。そこで実験前に類似の体サイズのマウスを剖検し、最適な気管チューブを検討した。気管との隙間や長さ、さらにはプローブとの相性などを検討した結果、直径1.1mm、長さ48mmのもの（ピンク色）の上記AE-F07070と直径1.1mm、長さ48mmの気管チューブの組み合わせが最適との結論に達した。なお、何れのプローブも唾液などの滲出液がプローブ先端に付着して画像が見づらくなる事はあったが、拭う事で直ぐに視野が回復して大きな問題とはならなかった。

本実験では、7匹のオスマウス（C57BL/6）を用いたが、7匹すべてにおいて挿管は2分以内に成功した（表1）。これら挿管の成否の良好な結果とは逆に、本実験で用いた7匹中3匹において挿管中あるいはチューブ挿管後に呼吸の停止あるいは抑制が認められた。そのうち、1匹

表1 マウスの個体情報と気管挿管ならびに吸入麻酔の結果

ID	体重 (g)	挿管開始から成功までの時間 (分:秒)	動脈内酸素飽和度 (%)										
			人工呼吸器接続直前	人工呼吸器接続直前の1分間の平均	人工呼吸器接続1分後	人工呼吸器接続1～2分後の平均	人工呼吸器接続3分後	人工呼吸器接続3～4分後の平均	人工呼吸器接続5分後	人工呼吸器接続5～6分後	人工呼吸器接続10分後	人工呼吸器接続10～11分後の平均	人工呼吸器接続15分後
1	26.4	1:30	挿管後トラブルで死亡										
2	27.7	1:45	82.2	84.1	99.7	99.7	99.6	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.5
3	26.6	0:25	97.4	97.9	99.8	99.8	99.8	99.8	99.7	99.7	99.7	99.7	99.5
4	29.4	0:20	81.2	77.0	99.7	99.7	99.6	99.6	99.6	99.6	99.5	99.5	99.6
5	28.1	0:10	76.2	72.9	99.5	99.4	99.2	99.3	99.3	99.3	99.2	99.3	99.2
6	28.7	0:40	72.3	69.9	99.2	99.5	99.5	99.5	99.6	99.6	99.3	99.3	99.3
7	29.8	0:15	挿管後トラブルで死亡										

(ID:2) は保定台にマウスを固定して気管チューブ挿管を試みている最中に呼吸停止が起きた。そこで保定台から外し、胸部マッサージを実施したところ、呼吸が少しずつ戻り、心拍動ならびに呼吸が回復した。そのため、マウスの健康状態に注意を払いながら、再度挿管を試みたところ、2分程度で挿管に成功した。

また、残りの2匹 (ID:1 および7) は挿管に成功したものの、挿管台から外し、気管チューブを固定するまでの間に呼吸が停止し、胸部マッサージを施したが死亡した。従って、以下のデータは挿管成功した7匹のうち、5匹に関するデータを示した (表1)。

人工呼吸器に接続する前後の SpO_2 の値は表1の通りである。気管チューブの挿管の成否に関しては7匹すべてで成功したが、挿管完了までに2分近く要する場合もあった。なお、上述の通り、挿管成功後、2匹が死亡した。

また、個体毎の前処置ならびに麻酔処置後の Vital Sign の経過に関しては図 10a~e に示した。

吸入麻酔器の回路に接続する前に SpO_2 を測定したが、その値は 72.3% から 97.4% であり、自発呼吸のみで人工呼吸器が不要と思われる個体が1匹いたものの、5匹 (ID:2, 3, 4, 5, 6) の平均値は 81.9% であり、覚醒時よりも低値を示した。

一方、人工呼吸器に接続1分後の SpO_2 は全ての個体で 99% 以上を示した。また、その後、接続3分後、5分後、10分後、そして15分後に全ての時点において、99% 以上を維持していた。そして、イソフルランを用いて人工呼吸を15分間施した間、全ての個体において SpO_2 が 99% を下回る事が無かった。

イソフルランの吸入停止後、1個体 (ID:2) は13分後、それ以外は3分後に麻酔回路から外したが、5匹すべてにおいて呼吸が停止する事はなかった。また、麻酔回路から外した後、全ての個体において SpO_2 値が低下した。しかしながら、低下した個体のうち3匹 (ID:3, 5, 6) に関しては、生体が反応し、心拍数や呼吸数の増加と共に SpO_2 値も上昇した。ただし、ID:2 および4は、3分以上 SpO_2 値の上昇が認められなかった。そこで、ID:2 に関しては抜管が済んでいたためマスクでの純酸素吸入を施した。一方、ID:4 に関しては抜管前であったため、麻酔回路に接続して2度の空気による人工呼吸を施した。その結果、2匹共、 SpO_2 の値が人工呼吸中は 99% 以上を示した。

SpO_2 以外の値では、 SpO_2 とは逆で、心拍数や呼吸数の値に関して、概ね急激な上昇や低下は少なかった。ただし、ID:5 では、呼吸数に関して比較的急激な上下動は認められなかったものの、心拍数に関しては、抜管に反応するように上昇が認められた。

図 10 には示されていないが、ID:3 は比較的覚醒までが早かったものの、抜管ならびに覚醒後、再度睡眠状態に入った。また、体表温が 28.9°C を示し、シバリングが認められた。

覚醒後、マウスの健康状態を確認してからケージに戻したが、ID:6 ではゼーゼーと異常呼吸音が確認された。一方、それ以外では、異常音は確認されなかった。さらに、翌日も健康状態を確認したが、体毛がやや毛羽立ったり、身のこなしが少々重い感じがするなど、吸入麻酔

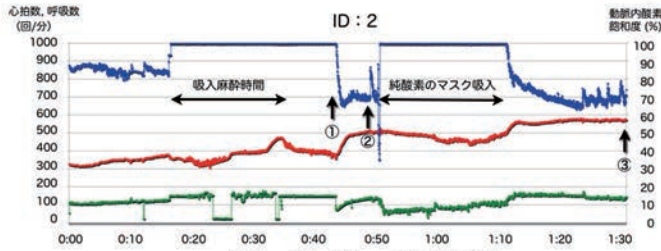


図10a Vital Signの経時的変化

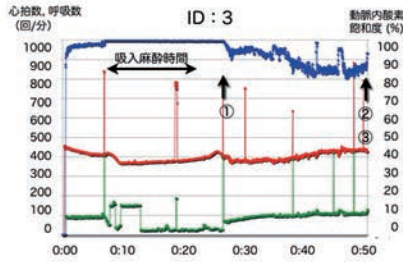


図10b Vital Signの経時的変化

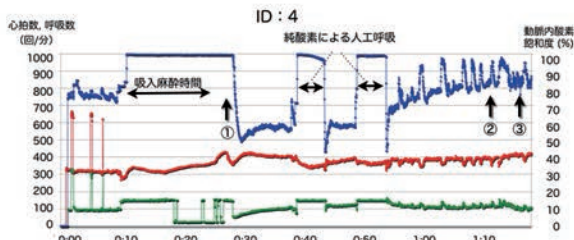


図10c Vital Signの経時的変化

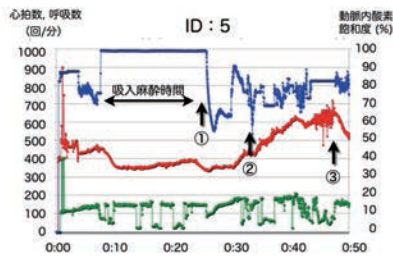


図10d Vital Signの経時的変化

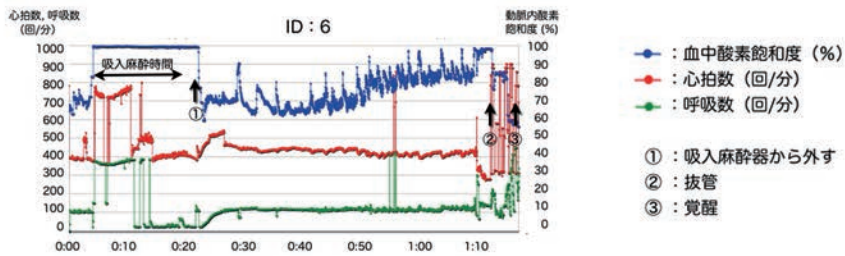


図10e Vital Signの経時的変化

- : 血中酸素飽和度 (%)
 - : 心拍数 (回/分)
 - : 呼吸数 (回/分)
- ① : 吸入麻酔器から外す
 ② : 抜管
 ③ : 覚醒

図 10a～e Vital Sign の経時的変化

のダメージが肉眼的に感じられた。しかしながら、その後は時間の経過と共に全ての個体が回復していった。

4. 考察

マウスは実験動物として欠かす事が出来ない重要な存在であり、これまで、我々ヒトの社会に多大なる貢献をしてきた。しかしながら、過去においては、マウスに対して肉体的、精神的ならびに社会的苦痛を与えてきた。こう言った状況を改善すべく、世界中で動物愛護精神の普及とその実践が促されてきた。「Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (邦題 実験動物の管理と使用に関する指針 第8版)」は、その代表的な指針の1つである。2010年の改訂で第8版となったが、版を重ねる毎に、実験動物の集団管理よりも個体管理へと比重が変わりつつある。特に動物愛護精神の普及や科学的に適正な実験を実施すべきとの考えから、動物実験に関わる様々な物事が改善されてきた。その中心をなすものの1つが実験動物への苦痛の軽減であり、そのために様々な努力がされてきた [3, 4, 5, 6]。

実験動物への苦痛の軽減方法の1つとして、麻酔に関する改善が長い歴史の中で実践されてきた [3, 4, 5, 6]。本実験は、その1つであり、実験動物に対して外科的処置を行う場合に、最も理想的と考えられる人工呼吸器を用いた吸入麻酔の開発を行った。今回の研究対象となった実験動物はマウスである。マウスはその長所を活かして、実験動物として世界中で最も多用されている。しかし、全く欠点がない訳ではなく、体サイズが小さい事が原因となって、理想的な麻酔を施す事が非常に困難となってきた。問題点の1つは、気管チューブの挿管が非常に難しい事である。その問題を解決する可能性を秘めた内視鏡システムが最近発売され、その有用性を確認すべく、本実験を行った。

本実験で用いたマウスの体重は 26.4g ~ 29.4g であったが、この程度の体サイズのマウスでは、気管の内径は 1mm 前後であり、本実験では類似サイズの剖検結果から、内視鏡プローブ AE-F07070 と直径 1.1mm、長さ 48mm の気管チューブの組み合わせが最適との結論に達し、実際に挿管を行った。結果的に良好な結果を得られた。人工呼吸器を接続しても SpO₂ 値の低下は認められず、マウスの気管と気管チューブのサイズが適していたと考えられる。なお、今回の実験で使用したマウスはオスの成熟マウスで有り、幼若個体や 20g 前半の体重であるメスマウスに対しては、別途検討が必要かも知れない。ただし、本実験では結果を示していないが、本実験を始める前に、同一系統のマウスを用いて、延べ 50 匹以上、挿管の練習を行った。その中には 20g 程度のメスマウスも練習に用いたが、挿管は困難であるものの十分挿管出来る結果を得られている。ただし、幼若個体での挿管は検討しておらず、挿管自体の可否も含め、別途検討が必要であろう。

また、上述の通り、本実験でデータを回収するまでに延べ 50 匹以上のマウスを用いて挿管の

練習のみを実施したが、実はそれに先立って、気管チューブの挿管が困難と言われるウサギを用いてデモを経験していた。内視鏡システムを用いたウサギへの気管チューブの挿管はこの時が初めての経験であったにもかかわらず、幸い2度共成功した。そう言った経緯も有り、マウスへの挿管に対して比較的楽観的に捕らえていたが、実際挿管をトライしてみると同一システムを用いても全く違った感触である事が解った。ただし、練習を積んで本システムに慣れれば、喉頭や喉頭蓋の状態を確認しながら挿管可能であり、特に器用でなくとも、練習次第で挿管可能になると思われる。また、食道への誤挿管に気付かずに麻酔トラブルを引き起こす点に関しても、本システムがあれば挿管した状態をほぼリアルタイムで画像で確認出来る事から、気管挿管の成否に関しては、図4に示した判断基準で判断すれば食道への誤挿管時にも直ぐに判断出来ると思われる。これが本システムの最大の長所の1つである。

今回の実験では、気管挿管の練習を事前に積んでいたため挿管自体のトラブルは殆ど無かった。従って、今回使用した気管チューブ挿管用の内視鏡システムは、事前に練習する事により、確実かつ安全に気管挿管を行うアシストになり得ると考えられる。ただし、結果にも記載した通り、実験に使用した7匹のうち、2匹は挿管後に呼吸トラブルで死亡し、1匹は挿管トライ中に呼吸トラブルが起きた。従って、内視鏡システムの有効性とは別に、前投与の再検討が必要かも知れない。本実験ではペントバルビタール 40mg/kg と硫酸アトロピン 0.04mg/kg を腹腔内投与したが、硫酸アトロピンは、迷走神経抑制効果を有し、心機能の抑制防止や、気管内や唾液腺からの分泌抑制効果があり、麻酔時には本薬剤の前投与が推奨されている [3, 5, 6]。一方、ペントバルビタールは世界中で多用されているが、心機能や呼吸機能の抑制効果があり、覚醒までの時間も長い。また、ペントバルビタールは性別や週齢、系統などによって効果がばらつきやすい [3, 5, 6]。今回の実験結果では、吸入麻酔後、人工呼吸を外して以降の Vital Sign の経過に個体差が認められた。従って、前投与に用いる薬剤の再検討が必要かも知れない。なお、本実験前の気管挿管練習においては、Kawai らが報告している麻酔方法 [13] を試したが、比較的良好な結果が得られており、気管チューブの挿管中あるいは挿管後に呼吸トラブルに遭遇する事はなかった。なお、Kawai らの提唱している麻酔方法は注射麻酔であるが、拮抗薬が存在するため、呼吸トラブルが生じた際にもアドバンテージとなり得る可能性がある。

本実験の目的である内視鏡システムの有効性の検討と共に、人工呼吸器を用いた吸入麻酔の検討も行った。挿管後、麻酔回路に接続するまでは低酸素状態であったマウスが回路接続1分以内には SpO₂ 値がすべて 99% を越え、キャリアガスとして純酸素を用いてイソフルランで15分間麻酔維持している間も、常に SpO₂ 値が 99% を越えており、本実験で使用した人工呼吸器の有用性が示唆された。なお、本実験では原則として純酸素をキャリアガスとして用いたが、ID:4 においては人工呼吸器から外した後に SpO₂ 値が低下したままの状態が続いたので、純酸素の代わりに空気を用いて人工呼吸を施した。この際、純酸素と変わりなく非常に良好な SpO₂ 値が得られた。従って、今後は、安全性とコストを検討するため、キャリアガスとして純酸素と共

に空気の使用を検討すべきかも知れない。

Vital Sign に関してであるが、本実験で用いた測定装置は、呼吸数に関して正確な値を示していない時が、術中に見受けられたが、概ね正確な値を示していたと考えられる。今回はマウスのモニタリングにおいて随時体表温を測定したが、やはり Vital Sign の1つである体温は他の Vital Sign 同様、常時観察・記録する必要がある。特に体重に対して体表面積の割合が高いマウスにおいては体温低下は、マウスへの術中の肉体的負担だけでなく、術後の負担も増加させる事から、更に厳密な温度管理が必要となろう [3, 5, 6]。なお、今回の実験では、麻酔翌日、マウスが麻酔処置により多少疲れが感じられ、体毛が少々毛羽立っていたものの、概ね処置翌日としては良好な健康状態に見受けられた。その後は、時間の経過と共に、外見上、健康なマウスに回復した。体重に比して体表面積が大きいマウスにおいては術中の体温管理が重要である [3, 5, 6]。本実験では直接的な因果関係は確認出来なかったものの、今回のネブタール投与量で認められる麻酔および睡眠時間に比して覚醒までの時間が短い結果が得られたのは、挿管直後から覚醒までヒーターマット上で加温処置した事もその一因かもしれない。また、直腸温よりも低値を示しているとは考えられるが、ID:3においては体表温が28.9℃を示し、シバリリングが認められ、ID:6においてはゼーゼーと異常呼吸音が覚醒後に認められた。以上の事から、更なる改善点として、術中管理、特に体温管理を現在よりも厳密に行うべきか、検討が必要かも知れない。特に術後の健康状態が思わしくない場合には、加温だけでなく点滴など、一層の術後管理が重要と思われる。また、人為的なミスで正確な Vital Sign が測定出来なくなるような、挿管技術の向上が必要であろう。

最後に、以上の結果を鑑みると、多少の手間とコストをかける事により、マウスに対して安全かつ苦痛を軽減する麻酔を施す事が可能である事が示唆された。今回の実験で用いた実験インフラを整備する事で「Guide for the Care and Use of Laboratory Animals」の第8版で推奨されている実験動物個々への配慮が達成出来る可能性が示された。

参考文献

- [1] National Research Council (U. S.) (2011). Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, Natl Academy Pr; 8 版。
- [2] National Research Council (U. S.) 翻訳; 日本実験動物学会 (2011)。実験動物の管理と使用に関する指針 8 版, アドスリー。
- [3] P. Flecknell (2009). Laboratory Animal Anaesthesia, Third Edition, Academic Press.
- [4] James G. Fox, et al. (2002). Laboratory Animal Medicine, Second Edition (American College of Laboratory Animal Medicine) 2nd edition, Academic Press.
- [5] L. M. Karen Hrapkiewicz (2006). Clinical Laboratory Animal Medicine: An Introduction Third Edition, Wiley-Blackwell.
- [6] M. L. Sarah Wolfensohn (2003). Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare THIRD

EDITION, Wiley-Blackwell.

- [7] T. Akao, et al. (2006). "Effect of the free radical scavenger MCI-186 on pulmonary ischemia-reperfusion injury in dogs." J Heart Lung Transplant 25 (8): 965-971.
- [8] K. Kobayashi, et al. (2007). "Effect of atrial natriuretic peptide on ischemia-reperfusion injury in a porcine total hepatic vascular exclusion model." World J Gastroenterol 13 (25): 3487-3492.
- [9] H. Imai, et al. (2006). "A new model of focal cerebral ischemia in the miniature pig." J Neurosurg 104 (2 Suppl): 123-132.
- [10] Y. Tanaka, et al. (2008). "Experimental model of lacunar infarction in the gyrencephalic brain of the miniature pig: neurological assessment and histological, immunohistochemical, and physiological evaluation of dynamic corticospinal tract deformation." Stroke 39 (1): 205-212.
- [11] M. Nakamura, et al. (2009). "Experimental investigation of encephalomyosynangiosis using gyrencephalic brain of the miniature pig: histopathological evaluation of dynamic reconstruction of vessels for functional anastomosis. Laboratory investigation." J Neurosurg Pediatr 3 (6): 488-495.
- [12] Kawai, S., Y. Takagi, et al. (2011). "Effect of three types of mixed anesthetic agents alternate to ketamine in mice." Exp Anim 60 (5): 481-487.

謝辞

本研究は、特定課題研究「トランスレーショナルリサーチ ～脈管系を中心にマウスとミニブタで～」(平成 23、24 年度、課題番号：C1102)の研究費を用いて行った。

また、本研究内容のうち、動物のモニタリングに関して多大なるご支援ならびに助言を頂いたプライムテック株式会社 蒲池広樹様に、この場をお借りして御礼申し上げます。

そして、本実験で用いたマウスの周術期管理を含めて飼育を担当して下さった株式会社エーテックの北村憲二様、村井弘一様、そして藤野唯様にも、この場をお借りして厚く御礼申し上げます。