原 著

薬理学実験におけるウサギの麻酔方法の再検討

政岡 俊夫, 新井 成之, 桑田 幸人
上島 庸秀, 赤堀 文昭

A Reevaluation of Anesthetic Induction in the Rabbit for Pharmacoeperimental Research

Toshio MASAOKA, Shigeyuki ARAI, Yukito KUWADA, Nobuhide KAMIJIMA
and Fumiaki AKAHORI

SUMMARY

In order to reevaluate anesthetic induction in rabbits used in pharmacological experiments, the anesthetic effects of urethane and phenobarbital were studied and compared.

1) A pharmacological experiment examining biological phenomena in JW-NIBS rabbits, which included blood pressure monitoring, demonstrated the suitability of urethane anesthesia. An intravenous injection of 1,800 mg/kg of urethane (30% solution) at a rate of 1 ml/min, ensured relatively stable measurements in experiments of two hours duration or less. On the other hand, when phenobarbital was used as the anesthetic, the biological phenomena in the rabbits were significantly decreased.

2) Urethane-induced anesthesia of adult JW-NIBS rabbits demonstrated no sex or age differences in the parameters of blood pressure, heart rate or respiratory rate.

3) The blood pressure variation between JW-NIBS and JW rabbits under urethane anesthesia did not exhibit the inbreeding difference that was expected between them.

は じ め に

薬理学実験におけるウサギの麻酔方法は、すでに成書などに述べられているが、同一薬物でも報告者によりその投与量にはかなりの差が認められている^{2,6,11,15,17,20)}。その理由として、ウサギの麻酔は、麻酔深度の調節や呼吸管理などに多くの

困難性が存在するからである。すなわち、①ウサギの呼吸中枢は麻酔薬の抑制作用に対し敏感であり、②麻酔量と致死量との間隔が狭く、③しかも、麻酔薬の麻酔作用に対する反応はウサギによりバラツキの大きいことが特徴となっている。それ故、麻酔量を個々のウサギにおいて決めなければならないことになる^{9,17,24,26)}。このように、ウサギの麻酔は実験動物の中でも極めて難しいことから、麻酔前投薬などにより、麻酔薬の用量を少なくする方法や、麻酔装置を用いる方法がとられている^{4,5,8,10,16,22,25,27)}。しかし、薬理学実験、とくに急性実験においてはデータ解析などの点から

麻酔薬は単一で、しかも経費のかからない方法が望ましい。これまで、成書に記載されている麻酔薬、投与量、投与経路などはまちまちであり、とくに我々のこれまでの経験では、麻酔薬の単独使用による皮下および腹腔投与では麻酔期に入るまでの時間が長く、また、かならずしも安定した麻酔深度を得ることができなかった。そこで、麻酔下での薬理学実験を行うに際し、ウサギに対し単一麻酔薬で、容易にしかも比較的長時間安定した効果の得られる麻酔方法を再検討することにした。さらに麻酔方法の一般性を追究するため性、年齢、系統による違いを併せて検討した。

実験材料および方法

これまでくり返しおこなってきた予備実験の結果や文献^{2,6,13,15,17,18)}を参考にして、urethane および phenobarbital をとりあげ、静脈注射による投与方法で実験をおこなった。

動物：urethane と phenobarbital の比較には、日本生物科学研究所より分与された JW-NIBS (Japanese White-Nippon Institute for Biological Science) ウサギの雄 (8~12 か月齢) 12 匹を用いた。また、ウサギに対する urethane 麻酔作用の性差、年齢差および系統差の実験には、同じく日本生物科学研究所より提供された JW-NIBS ウサギの雄 (8~12 か月齢) 10 匹、雌 (8, 12 および 32 か月齢：各 5 匹) 15 匹、NZW-NIBS (New Zealand White-NIBS) ウサギの雄・雌の各 4 か月齢および各 8 か月齢 (各 5 匹) 20 匹を用いた。この他、いわゆる実験用ウサギとして一般に市販されているコロニーの不明確な日本白色在来種 (JW) を S 実験動物繁殖研究所¹⁾より購入 (成熟雄ウサギ 5 匹) して使用した。

いずれのウサギも実験まで当教室の動物舎にて馴化のため 3~5 か月間飼育した。飼育環境条件は温度 $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $57 \pm 7\%$ で、飼料 (日生研 NRT-1、固形飼料) は 1 日 120 g を 2 回に分けて給与する制限給飼とした。なお、水は自由飲水させ、飼育室は明・暗各 12 時間とした。

使用薬物：urethane (ethyl carbamate: $\text{C}_2\text{H}_5\text{OCONH}_2$) および phenobarbital (5-phenyl-

5-ethylbarbituric acid: $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$) のナトリウム塩を和光純薬²⁾より購入し用いた。

方法：予備実験の結果より、urethane の投与量は 1,800 mg/kg、濃度は 30 w/v% 溶液とし、後耳介静脈より、これを 1 分間に 1 ml の速度で投与することにした。一方、phenobarbital は 200 mg/kg の投与量、3 w/v% の濃度で urethane と同様の方法で投与した。なお、麻酔深度のチェックには、Gardner⁹⁾ による項目にしたがい注意深くおこなった。

血圧・心拍数および呼吸数はバイオフィジオグラフ・システム 180 (NEC-三栄測器製) を用い、経時的に同時記録 (記録計はインク書きレクチオグラフ 8S; NEC-三栄測器製) した。血圧は外径 1.5 mm のポリエチレンチューブにヘパリン加生食 (100 unit/ml) を満したカニューレを大腿動脈に装着し、直接動脈圧を測定した。カニューレションの後、ウサギをヘパリン化 (700 unit/kg) した。なお、カニューレションに要する時間にはとくに注意し、いずれの個体も 15~20 分で終了させた。また、心拍数は A-B 誘導法により得られた心電図波形の棘波を数え、呼吸数は胸部運動を圧変化にかえ測定した。いずれも麻酔後 300 分まで経時的に記録した。

実験結果

1. urethane および phenobarbital 麻酔の影響比較

Fig. 1~3 に urethane (○) と phenobarbital (●) の血圧、心拍数および呼吸数に対する影響を示した。平均血圧 (Fig. 1) はカニューレション終了と同時に記録を開始したもので、データは平均値と標準偏差で示してある。

phenobarbital 200 mg/kg 麻酔では、urethane 1,800 mg/kg 麻酔に比べ平均血圧がより低い値を示した。しかし、120 分以降の血圧では urethane 麻酔においても下降し、phenobarbital 麻酔とほぼ同じ値を示した。urethane 麻酔における心拍数 (Fig. 2) の変化は、血圧測定のためのカニューレション終了 30 分目においてわずかに増数したが、その後、経時的にゆるやかな減数傾

Fig. 1. Effect of urethane and phenobarbital on mean blood pressure in JW-NIBS rabbits. Each point represents mean $\pm$ SD.

○ : Urethane
● : Phenobarbital

Fig. 2. Effect of urethane and phenobarbital on heart rate in JW-NIBS rabbits.

○ : Urethane
● : Phenobarbital

Fig. 3. Effect of urethane and phenobarbital on respiratory rate in JW-NIBS rabbits.

○ : Urethane
● : Phenobarbital

向を示した。しかし、300 分を経過しても1分目の時点と比べ有意の差は認められなかった。一方、phenobarbital 麻酔では心拍数は経時的に減少し、観察終了時の300分目では1分目の値に比べ有意 ($p \leq 0.01$) に減数した。このように心拍数に対する影響は、urethane と phenobarbital とでは明らかに差が認められた。一方、呼吸数 (Fig. 3) においても、phenobarbital 麻酔は urethane 麻酔に比べ著しく抑制される結果を得た。このように phenobarbital (200 mg/kg) 麻酔では血圧、心拍および呼吸など生体機能に対する抑制の程度が強く、それに比較し urethane (1,800 mg/kg, 1 ml/min) 麻酔では生体機能は比較的安定した結果が得られた。それ故、urethane 1,800 mg/kg 静脈注射麻酔 (30 w/v% 溶液, 注入速度 1 ml/min) は、ウサギを対象とする薬理学実験に適しているといえよう。

2. Urethane 麻酔の性差、年齢差および系統差の検討

Fig. 4 は urethane 麻酔下における JW-NIBS ウサギの雄 (○) および雌 (●) の平均血圧の変動 (平均値 $\pm$ 標準偏差) を示したものである。雄は麻酔薬投与カニューレ終了点後 180 分目以降血圧の低下が認められたのに対し、雌では著しい変化はみられなかった。しかし、この雄における血圧低下は1分目の値と比べ有意の差 ($p \geq 0.05$) は認められなかった。また、雌雄間における性差も有意性 ($p \geq 0.05$) は検出されなかった。Fig. 5 には同じく心拍数の経時変化を示してあるが、

Fig. 4. Effect of urethane on blood pressure in JW-NIBS rabbits.

○ : Male rabbits
● : Female rabbits

Fig. 5. Effect of urethane on heart rate in JW-NIBS rabbits.
○ : Male rabbits
● : Female rabbits

ウサギを麻酔薬投与前に保定台上に背位強制固定し、心拍数を無麻酔下にて記録測定して0分値とした。雄および雌とも1分目より30分目まで心拍数は増加し、その後、経時的にゆるやかな減数傾向を示した。呼吸数の変化 (Fig. 6) は、心拍数と同様0分値を表示してあるが、雄ならびに雌とも1分目の時点では麻酔前の値に比べ1/3程度に抑制された。しかもこの値は観察終了の300分目まではほぼ安定した状態で推移し、とくに雌雄の差は認められなかった。

このように urethane 麻酔における反応に性差の認められなかったことから、年齢差については雌ウサギにおいてのみ検討した。すなわち、Fig. 7 は JW-NIBS 雌ウサギの8か月齢、12か月齢

Fig. 6. Effect of urethane on respiratory rate in JW-NIBS rabbits.
○ : Male rabbits
● : Female rabbits

Fig. 7. Effect of urethane on mean blood pressure in JW-NIBS rabbits.
△ : Female rabbits, 8 month-old
● : Female rabbits, 12 month-old
× : Female rabbits, 32 month-old

および32か月齢の平均血圧の変化を比較したものである。血圧はいずれの月齢でも麻酔後180分すぎより若干の低下が認められるが、とくに、32か月齢においては他の月齢に比べバラツキは大きくなっており、高年齢になると urethane に対する反応に個体差が認められるようになる。Fig. 8 は同時に測定した心拍数の推移を示したものであり各月齢とも同様の変動パターンを示し、とくに月齢による差はみられなかった。心拍数と同時に記録した呼吸数の推移は Fig. 9 に示してある。呼吸数においてもとくに月齢差は認められなかった。Fig. 10 には NZW-NIBS ウサギの4か月齢 (雄: ○, 雌: ●) および8か月齢 (雄: △, 雌: ▲) の urethane 麻酔下における平均血圧の推移

Fig. 8. Effect of urethane on heart rate in JW-NIBS rabbits.
△ : Female rabbits, 8 month-old
● : Female rabbits, 12 month-old
× : Female rabbits, 32 month-old

Fig. 9. Effect of urethane on respiratory rate in JW-NIBS rabbits.

△ : Female rabbits, 8 month-old
● : Female rabbits, 12 month-old
× : Female rabbits, 32 month-old

Fig. 10. Effect of urethane on mean blood pressure in NZW-NIBS rabbits.

○ : Male rabbits, 4 month-old
● : Female rabbits, 4 month-old
△ : Male rabbits, 8 month-old
▲ : Female rabbits, 8 month-old

を一括して示した。NZW-NIBS ウサギは JW-NIBS ウサギと同様に 180 分目すぎより血圧の低下が認められ、バラツキも大きくなった。また、年齢差で比較すると、4 か月齢のウサギ（雄雌とも）は 1 分目の時点で 8 か月齢のウサギに比べ、10~15mmHg ほど高くなっているが、60~120 分目頃より両者はほぼ同じ値となり、その後同様のパターンで推移した。一方、呼吸数および心拍数の変化はそれぞれ Fig. 11, 12 に示してある。呼吸数では NZW-NIBS ウサギの 8 か月齢（雄、雌とも）は、麻酔前の平均値で 200~250 回/分とバラツキが大きく、また、1 分目より 30 分目にかけて約 100 回/分と減数した。その後、雄、

Fig. 11. Effect of urethane on respiratory rate in NZW-NIBS rabbits.

○ : Male rabbits, 4 month-old
● : Female rabbits, 4 month-old
△ : Male rabbits, 8 month-old
▲ : Female rabbits, 8 month-old

Fig. 12. Effect of urethane on heart rate in NZW-NIBS rabbits.

○ : Male rabbits, 4 month-old
● : Female rabbits, 4 month-old
△ : Male rabbits, 8 month-old
▲ : Female rabbits, 8 month-old

雌とも安定した推移を示し、JW-NIBS ウサギのそれと同様の変動パターンであった。一方、4 か月齢（雄、雌とも）では麻酔の前後で大きな差は認められず、観察期間中 60~70 回/分の値で推移し、無麻酔時の保定の影響が 4 か月齢では少ないことがうかがわれた。心拍数はいずれの群においても JW-NIBS ウサギでみられた同じ変動パターンを示し、しかも性差や月齢差も認められなかつ

た。このように、NZW-NIBS においては、呼吸数では無麻酔時に4か月齢と8か月齢とで差がみられたが、urethane に対する反応差は血圧や心拍数と同様、性や年齢の違いによる差は認められなかった。また、これらの測定値はおおむね JW-NIBS の値と同様であり、品種差も確認されなかった。

Fig. 13 は系統差を検討するため、JW-NIBS と JW の urethane 麻酔下における血圧変化の推移を示したものである。いずれも同じ様な変動パターンであり、系統化されたウサギと、とくに遺伝的に制御されていないウサギとの間でも差はみられなかった。

以上のように urethane 麻酔におけるウサギの性、年齢ならびに系統（品種）による生体反応の差について比較検討した結果、性差、年齢差および系統差は認められず、urethane 1,800 mg/kg 静脈麻酔（30 w/v% 溶液、注入速度 1 ml/min）は、ウサギ一般に対し比較的安定した麻酔状態を得ることができるものといえる。

考 察

ウサギを用いる薬理学実験において、比較的長時間安定した麻酔効果の得られる薬物を選択することは極めて重要なことである。

そこでウサギに対し長時間麻酔作用を有する urethane と phenobarbital の血圧、心拍数および呼吸数への影響度合から両者を比較再検討した

結果、urethane 麻酔の方が生体反応の変動においてより安定した成績を得た。すなわち、phenobarbital はとくに心拍数および呼吸数において著しい抑制作用が認められた。これは phenobarbital の十分な麻酔効果を得るためには薬物を致死量近くまで投与しなければならないこと、その結果として強い呼吸抑制と心拍数の抑制が現われたものであるといえる^{14,15,19}。また、血圧の低下も phenobarbital の方が urethane よりも大きく、これは phenobarbital の中枢抑制作用ならびに直接作用としての毛細血管の拡張¹⁹が原因しているものと考えられる。一方、urethane 麻酔は呼吸に対しあまり影響を与えないとされており¹⁵、また、心機能においては血液循環反射が urethane により強化されるといわれている¹⁵。本実験でも urethane 投与前に認められた 150～180 回/分の呼吸数（JW-NIBS および NZW-NIBS の 8 か月齢以上）は保定による影響が加わったものであり、urethane 投与後は 50～60 回/分の値を示した。この urethane 投与後の値はいわゆるウサギの安静時の呼吸数として報告されている数値であり¹、urethane は呼吸に対し大きな影響を与えないことが再確認された。urethane 投与後の心拍数においては、一過性の増加を認めたが、同様の変化は吸入麻酔薬の halothane においても報告されている²¹。halothane のこの作用は、麻酔による循環血量の低下からくる圧受容器の作用によるものではなく、むしろ洞房結節の直接刺激によるものとされている²¹が、urethane による心拍数の増加は、血液循環反射亢進による圧受容器への作用によるものと考えられている²¹。urethane 麻酔による血圧の低下は 120～180 分以降著明となるが、これは別の in vitro 実験や血尿の出現などから血液に対し cytotoxic な作用が現われ、赤血球の破壊や血管壁の透過性の増大がおこっているものと思われる。Bree et al.³⁾ は、ウサギに urethane 投与後、2 分で PCV の低下や溶血が出現し、2 時間後には PCV は有意に低下し、溶血は全例に認められたと報告している。本研究でも 2 時間目以降、血圧の低下が顕著となったのは、このような赤血球の破壊や血管壁透過性

Fig. 13. Effect of urethane on mean blood pressure in JW-NIBS and JW rabbits.
○ : Male JW-NIBS rabbits
● : Male JW rabbits

が亢進するなど、urethane の toxic な影響が現われたものと考えられる。

今回、実験に用いた urethane 1,800 mg/kg および phenobarbital 200 mg/kg という投与量は、いずれの報告^{2,6,13,15,17,18)} よりも多い投与量ではあるが、とくに濃度や注入速度にも注意をはらった結果、このような多量の投与が可能となり、urethane 麻酔では比較的安定したより長時間の麻酔効果が得られたものとする。また、静脈麻酔では、投与速度と麻酔深度には関係のあることが知られているものの、厳密な投与速度を指摘した報告はなく、Kaplan et al.¹²⁾ の数種の barbiturate を用いたウサギに対する麻酔効果の実験においても、麻酔深度の判定には基準を示してあるものの、投与速度はいわゆる術者のカンにたより、とくに規定していない。この研究では、前述のように urethane 30 w/v% 液を用い、1 ml/分という投与速度でもって、体重 1 kg あたり、1,800 mg を投与すれば投与終了と同時に麻酔状態となりウサギに対し比較的長時間安定した麻酔効果の得られることを明らかにした。また、この効果は Streicher et al.²³⁾ や Field⁷⁾ が pentobarbital において述べているように urethane においても性、年齢および品種によりその効果に違いが生じるものではないことを指摘した。

このように urethane 1,800 mg/kg 静脈投与は、30 w/v% 溶液を用い、注入速度を 1 ml/分とすることにより、ウサギの性、年齢および系統（品種）に関係なく、安定した麻酔効果が得られる。しかし、投与 2 時間目以降、血圧の低下が認められることから、この麻酔方法は、2 時間以内のウサギにおける急性の実験においてその効果が期待できるものといえる。

要 約

urethane および phenobarbital のウサギに対する麻酔作用の結果は次のように要約できる。

1) ウサギ (JW-NIBS) を用いる薬理学実験において、血圧などの生体現象を観察の対象とする場合、2 時間以内の実験なら、urethane 1,800 mg/kg の静脈内投与 (30 w/v% 溶液、毎分当り

1 ml の注射速度) により比較的安定した麻酔効果が得られた。一方、phenobarbital では血圧、心拍数および呼吸数が urethane に比べ強く抑制された。

2) urethane 麻酔下での成熟 JW-NIBS ウサギおよび NZW-NIBS ウサギの血圧、心拍数および呼吸数の変動には、性差、年齢差および品種差はみられなかった。

3) JW-NIBS ウサギと JW ウサギにおける urethane 麻酔下での血圧の変動には両者間の純化の程度による差を認めなかった。

文 献

- 1) Adams, C.E., Aitken, F.C. and Worden, A.N. : The rabbit, The UFAW handbook on the care and management of laboratory animals, 3rd ed., 396-448. (Ed. the staff of UFAW and others.) E & S Livingstone Ltd., Edinburgh & London, 1967.
- 2) Booth, N.H. and McDonald, L.E. : Veterinary pharmacology and therapeutics, 250. I.S.U. Press, Ames, 1982.
- 3) Bree, M.M. and Cohen, B. : Effects of urethane anesthesia on blood and blood vessels in rabbits, Lab. Anim. Care, **15**, 254-259, 1965.
- 4) Bunta, C.A., Banta, R.G., Belin, R.P. and Wekstein, D.R. : A low-cost electronic cardiac auscultation device for monitoring rabbits under general anesthesia, Lab. Anim. Sci., **22**, 402-403, 1972.
- 5) Dolowy, W.C. and Hesse, A.L. : Chlorpromazine premedication with pentobarbital anesthesia in the rabbit, J. Am. Vet. Med. Assoc., **15**, 183-184, 1959.
- 6) Domer, F.R. : Animal experiments in pharmacological analysis, 568, Charles C Thomas Publisher, Illinois, 1971.
- 7) Field, E.J. : Anesthesia in rabbits, J.

- Anim. Tech. Assoc., 8, 47, 1957.
- 8) Freeman, M.J., Bailey, S.P. and Hodeson, S. : Premedication tracheal intubation and methoxyflurane anesthesia in the rabbit. *Lab. Anim. Sci.*, **22**, 576-580, 1972.
 - 9) Gardner, A.F. : The development of general anesthesia in the albino rabbit for surgical procedures, *Lab. Anim. Care*, **14**, 214-225, 1964.
 - 10) Hodesson, S., Rich, S.T., Washington, J.O. and Apt, L. : Anesthesia of the rabbit with equi-thesin following the administration of preanesthetics, *Lab. Anim. Care*, **15**, 336-344, 1965.
 - 11) Jones, O.G. : Small animal anesthesia, 99-102, Pergamon press, London, 1964.
 - 12) Kaplan, H.M. and OBrien, D.J. : Comparative evaluation of anesthetic properties of six barbiturates and of vladril in the rabbit, *Proc. Anim. Care panel*, **12**, 1-6, 1962.
 - 13) Ling, H.W. : Anaesthesia in rabbits, *J. Anim. Tech. Assoc.*, **8**, 58-60, 1957.
 - 14) 三須良実 : 薬理学, 第6版, 71-77, 栄光堂, 東京, 1983.
 - 15) 宮川知典 : 動物の麻酔(訳), 第二巻, 全身麻酔, 45-68, 199, 学窓社, 東京, 1968.
 - 16) Mulder, J.B. : Anesthesia in the rabbit using a combination of ketamine and promazine, *Lab. Anim. Sci.*, **28**, 321-322, 1978.
 - 17) Murdock, H.R. Jr. : Anesthesia in the rabbit, *Fed. Proc., Fed. Am. Soc. Exp. Biol.*, **28**, 1510-1516, 1969.
 - 18) 小野 宏 : 動物の麻酔法, 実験医学, **2**, 93-97, 1984.
 - 19) 大久保義夫, 吐出豊秋 : 家畜薬理学, 第2版, 82-84, 125-129, 養賢堂, 東京, 1981.
 - 20) Rossoff, I.S. : Handbook of veterinary drugs, 632-633, Springer Publishing Co., New York, 1974.
 - 21) Sartick, M., Eldridge, M.L., Johnson, J.A., Kurz, K.D., Fowler, W.L. Jr. and Payne, C.G. : Recovery rate of the cardiovascular system in rabbits following short-term halothane anesthesia, *Lab. Anim. Sci.*, **29**, 186-190, 1979.
 - 22) Skartvedt, S.M. and Lyon, N.C. : A simple apparatus for inducing and maintaining halothane anesthesia of the rabbit, *Lab. Anim. Sci.*, **22**, 922-924, 1972.
 - 23) Streicher, E. and Garbus, J. : Effect of age and sex on duration of hexobarbital anesthesia in rats, *J. Gerontol*, **10**, 441-444, 1955.
 - 24) 鈴木政美, 鈴木正彦, 高橋友子, 田中 求 : 動物実験を目的としたウサギの麻酔, 獣医麻酔, **11**, 81-86, 1980.
 - 25) Watson, S.C. and Cowie, A.T. : A simple closed-circuit apparatus for cyclopropane and halothane anesthesia of the rabbit, *Lab. Anim. Care*, **16**, 515-519, 1966.
 - 26) Weisboth, S.H., Flatt, R.E. and Kraus, A.L. : The biology of the laboratory rabbit, 73-90, Academic Press, New York and London, 1974.
 - 27) White, G.L. and Holmes, D.D. : A comparison of ketamine and the combination ketamine-xylazine for effective surgical anesthesia in the rabbit, *Lab. Anim. Sci.*, **26**, 804-806, 1976.