

三種混合麻酔薬を用いた麻酔 (マウス)

対象者: 麻酔薬についての知識を有する方

対象動物: 主にマウス



国立国際医療研究センター研究所

岡村 匡史

三種混合麻酔薬の麻酔効果の検討

系統(性別)	週齢	体重 (g)	正向反射消失時間 (min)	外科的麻酔開始時間 (min)	外科的麻酔終了時間 (min)	外科的麻酔時間 (min)
M/M/B: 0.3/4/5						
C57BL/6NCr(雄)	12	25.3 ± 1.2	3.6 ± 1.3	5.4 ± 1.1	67.6 ± 29.5	62.3 ± 30.2
C57BL/6NCr(雌)	10	20.7 ± 1.1	3.2 ± 1.0	5.0 ± 0.5	119.0 ± 7.5*	114.0 ± 8.9**
ICR(雄)	11	44.2 ± 1.1	3.5 ± 2.0	7.3 ± 3.5	62.3 ± 14.7	55.0 ± 11.8
ICR(雌)	10	35.4 ± 1.0	3.0 ± 0.4	6.6 ± 0.5	95.1 ± 4.5 [#]	88.5 ± 4.1 ^{##}

* $P < 0.05$, ** $P < 0.05$, + $P < 0.01$, ++ $P < 0.01$ compared with the same strain. Mean ± SD

室温で保存した三種混合麻酔薬の麻酔効果

麻酔調整後の経過時間	正向反射消失時間 (min)	外科的麻酔開始時間 (min)	外科的麻酔終了時間 (min)	外科的麻酔時間 (min)
M/M/B: 0.3/4/5				
当日	3.6 ± 1.3	5.4 ± 1.1	67.6 ± 29.5	62.3 ± 30.2
4週間	4.3 ± 0.3	6.8 ± 0.7	77.0 ± 2.9	70.3 ± 2.3
8週間	4.1 ± 0.3	6.2 ± 1.0	62.8 ± 4.6	56.6 ± 5.4

目的

本研究では、生殖工学技術において最も汎用される受精卵移植手術に、新たな注射麻酔薬として注目されている**三種混合麻酔薬**を導入するため、**マウス胚移植成績への影響を検討した。**

方法1: 三種混合麻酔薬(M/M/B)について

$\alpha 2$ アドレナリン受容体作動薬のメドミジン、 $GABA_A$ 受容体作動薬のミダゾラム、およびオピオイドのブトルファノールを混合させた麻酔薬である(Kawai S. et al., Exp.Anim.,2011)。メドミジンの拮抗薬であるアチパメゾールの投与により速やかに覚醒することができる。当施設は、Kawai Sら、および東北大動物実験施設の報告を元に、メドミジンを**2.5倍量**に増やし(表2)、体重10gあたり0.1ml投与するように調整した。

プロトコールは <http://www.rincgm.jp/department/lab/08> よりダウンロード可能である。

表2.三種混合麻酔薬の必要量

成分	商品名	販売元	濃度	必要量
メドミジン	ドミツール	日本全薬工業株式会社	1 mg/ml	0.75 mg/kg
ミダゾラム	ミダゾラム「サンド」	サンド株式会社	5 mg/ml	4 mg/kg
ブトルファノール	ベトルファール	Meiji Seika ファルマ株式会社	5 mg/ml	5 mg/kg
アチパメゾール	アンチセダン	日本全薬工業株式会社	5 mg/ml	0.75 mg/kg

補足資料

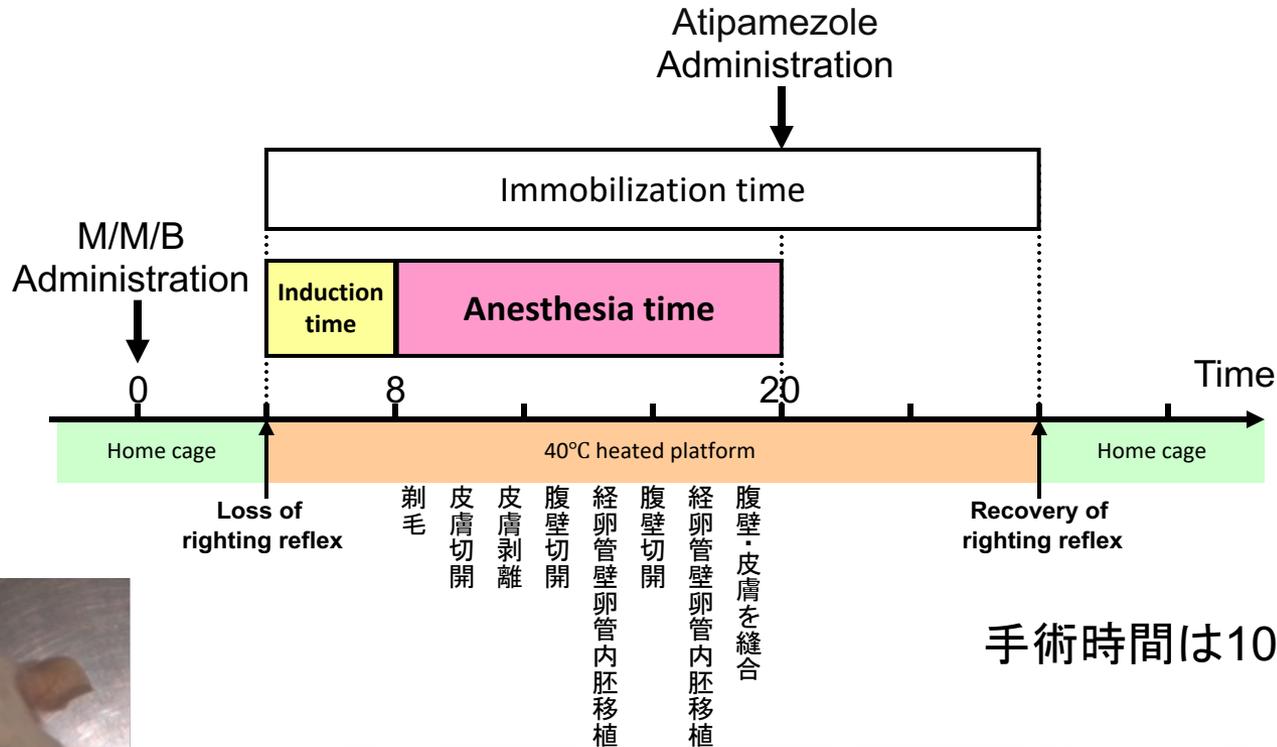
[麻酔薬および鎮痛薬]

- ・メデトミジン(ドミツール、日本全薬工業株式会社)
- ・ミダゾラム(ミダゾラム、サンド株式会社)
- ・ブトルファノール(ベトルファール、Meiji Seikaファルマ株式会社)

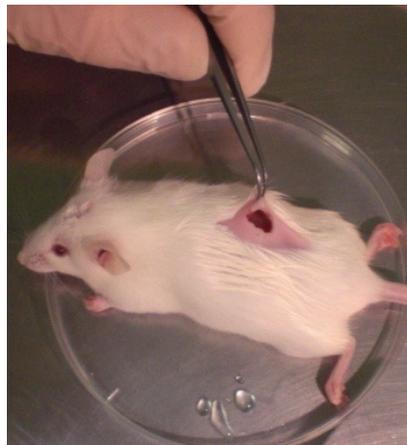
三種混合麻酔薬のメデトミジン量の予備検討

M/M/B (mg/kg)	系統(雌 雄)	体重(g)	投与部位	反射消失 個体数
0.3/4/5	ICR(雌)	28.6±0.5	ip	0/2
0.3/4/5	ICR(雌)	28.4±0.4	sc	6/8
0.375/4/5	ICR(雌)	-	ip	0/2
0.45/4/5	ICR(雌)	-	ip	2/4
0.6/4/5	ICR(雌)	-	ip	6/10
0.75/4/5	ICR(雌)	31.1±0.3	ip	13/13
0.75/4/5	ICR(雌)	28.3±0.4	sc	6/6

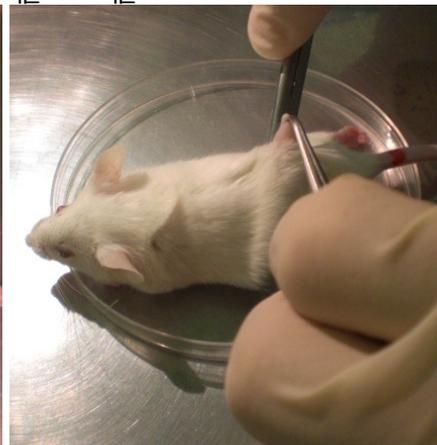
マウス受精卵移植のタイムコース



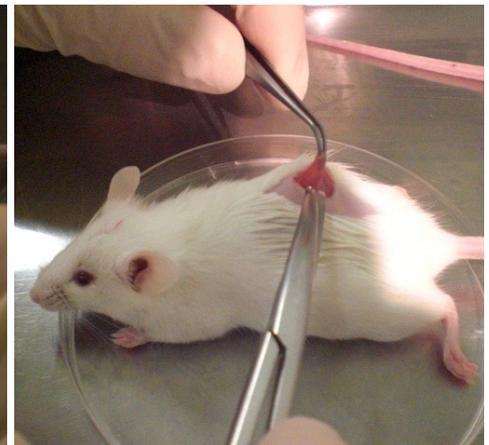
手術時間は10分/匹程度



皮膚を1cm程度切開
営利目的でのご利用はご遠慮ください



皮下剥離、腹壁(2カ所)
を1cm程度切開



卵巣、卵管を露出
www.icrweb.jp

結果

Production of pups following embryo transfer.

Anesthetic agent	No.of 2-cell embryos transferred*	No.of recipients	% of Implants	% of pups
0.75M/M/B	166	10	71.3 ± 14.4	44.6 ± 14.7
Isoflurane	182	10	68.8 ± 20.2	42.3 ± 13.8

*Two-cell embryos from C57BL/6NCr

三種混合麻酔薬を用いても、イソフルランと比較し
着床率および産仔率に有意な差はない。

術後加温しないと産仔率が有意に低下する

Production of pups following genetically modified mice embryo transfer.

On hot plate (40°C) after surgery	Genetic background	Embryo Stage	No. of 2-cell embryos transferred	No. of pups	% of pups
-	C57BL/6	2-cell	266	104	38.8 ± 3.0
+	C57BL/6	2-cell	306	162	53.3 ± 4.6*

* $P < 0.05$, Mean ± SE

マウスは体が小さいため、全身麻酔中に体温降下が起きやすく、術中・術後の加温が必要です。

Ⅲ 型



ヒーターマット、夏目製作所

覚醒後の体温変化

ICR雌7週齢個体を用いて、イソフルランとM/M/B麻酔群で、覚醒後にケージに戻した時点からの体温変化を測定した。イソフルラン麻酔群は3%イソフルランで導入後、2%で20分間維持、正向反射回復後、ケージに戻し10分毎に直腸温を測定した。M/M/B麻酔群はM/M/B皮下投与し、立ち直り反射消失20分後にアンチセダン投与、正向反射回復後にケージに戻し10分毎に直腸温を測定した(図4)。

その結果、イソフルラン麻酔群は覚醒後約20分で0.8°C程度体温が下がり、約40分で元の体温に戻った。またM/M/B麻酔群は覚醒後120分で4.3°C程度体温が下がり、約300分でほぼ元の体温に戻った(図5)。覚醒後の体温低下が少ないのはイソフルランであることが示された。

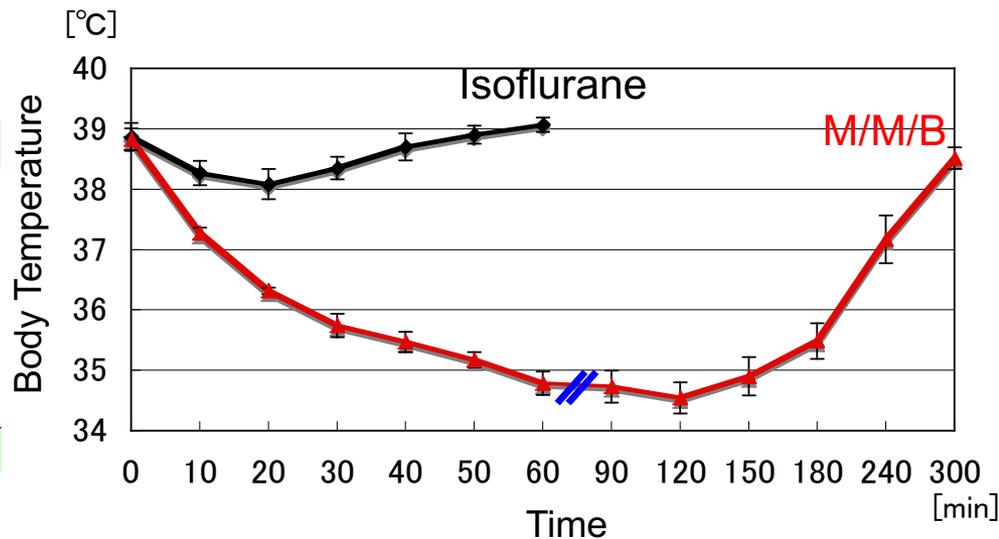
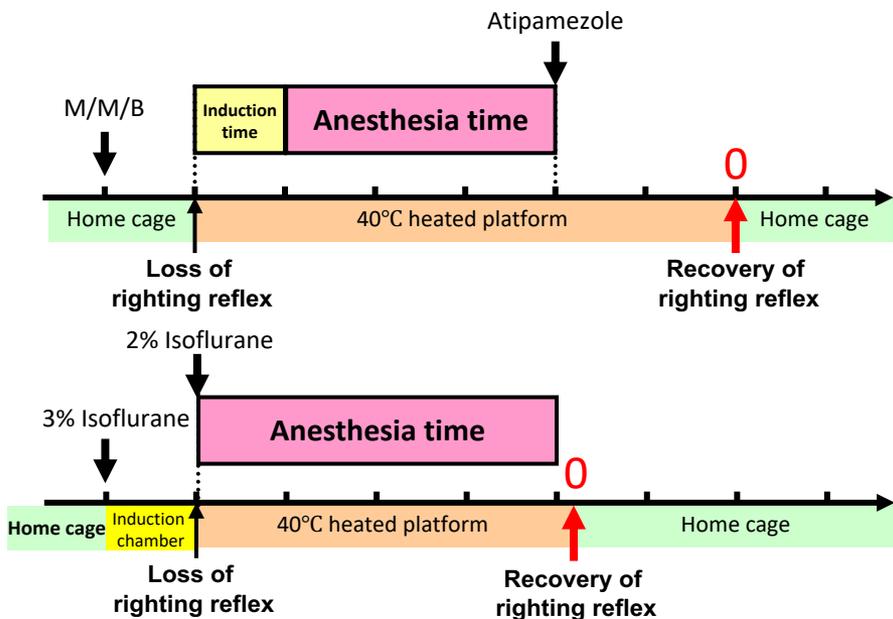


図4. 麻酔のタイムコース

図5. 覚醒後体温

$\alpha 2$ アドレナリン受容体作動薬(メドミジン、キシラジンなど)の特徴

[長所]

1,620 : 1

160 : 1

$\alpha 2/\alpha 1$ 選択性

- ・鎮静作用が非常に強力。
- ・鎮静作用だけでなく、鎮痛、筋弛緩作用も示す。
- ・他の鎮静薬、麻薬、麻酔薬と相加・相乗的に作用するため、相互の薬剤の用量を減らすことができる。
- ・呼吸抑制は一般的にはあまり強くない。
- ・拮抗薬(アチパメゾール)で迅速に作用を中断できる。

[短所]

- ・ $\alpha 2$ アドレナリン受容体は全身に分布するため、鎮静作用以外にも様々な作用を示す。
- ・末梢血管収縮作用による一過性の血圧上昇。
- ・強い徐脈(血圧上昇に対する圧反射-副交感神経刺激作用)。
- ・体温が低下しやすい(特にネコ)。
- ・血糖値の上昇(膵 β 細胞からのインスリン分泌抑制)
- ・利尿作用

メドミジンの量を増やすことで副作用も増強

佐々木伸雄監修、獣医臨床麻酔学、学窓社、一部改変

営利目的でのご利用はご遠慮ください

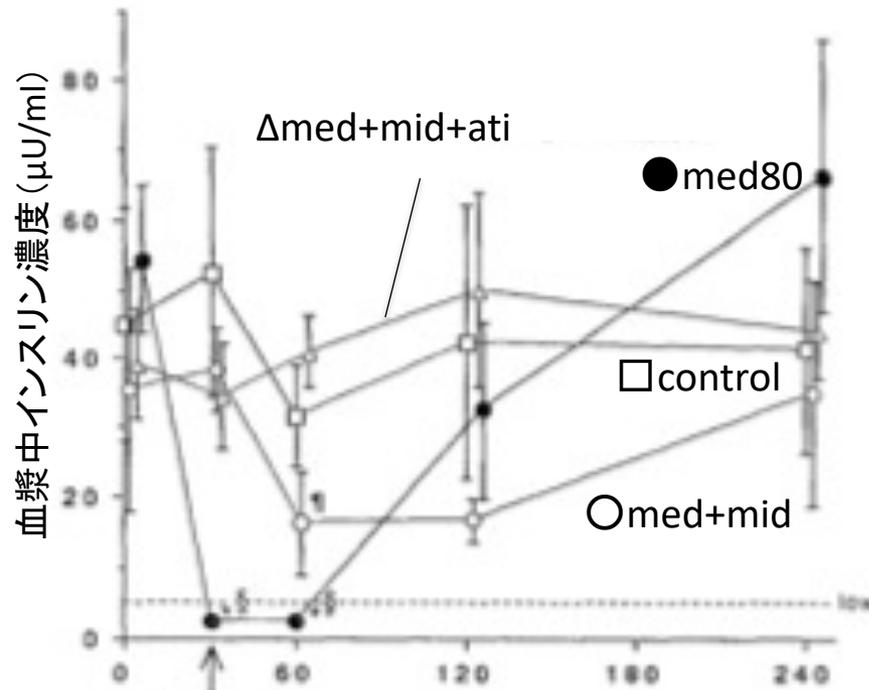
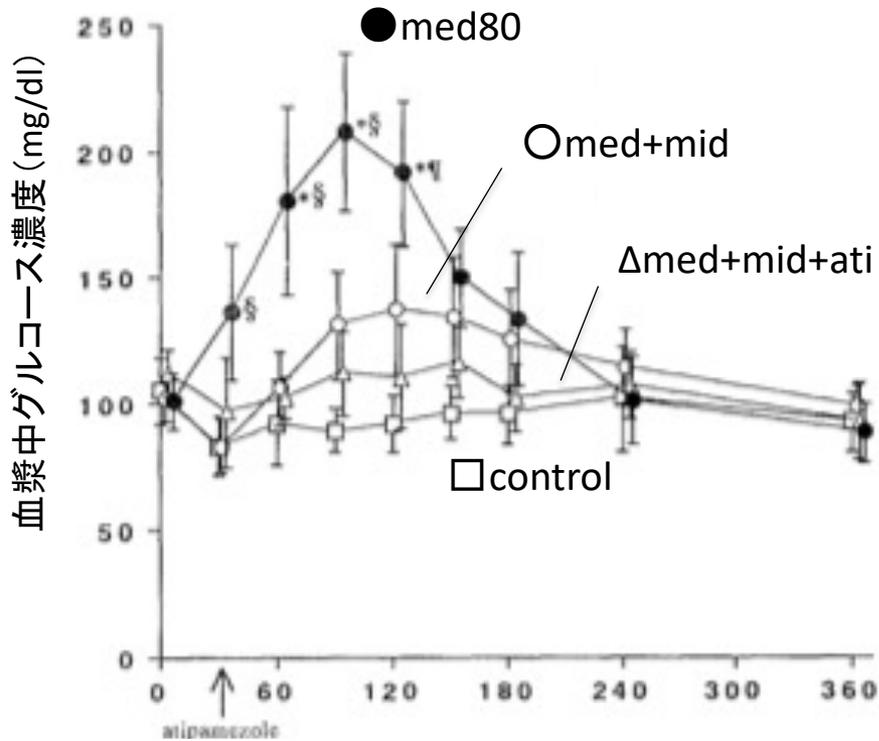
www.icrweb.jp

メドミジンの血糖値上昇作用

実験用豚におけるメドミジン：ミダゾラムの血糖値および血中インスリン濃度におよぼす影響

麻酔投与後の血糖値

麻酔投与後のインスリン濃度



投与後の時間(分)

投与後の時間(分)

● med80; メドミジン80ug/Kg BW

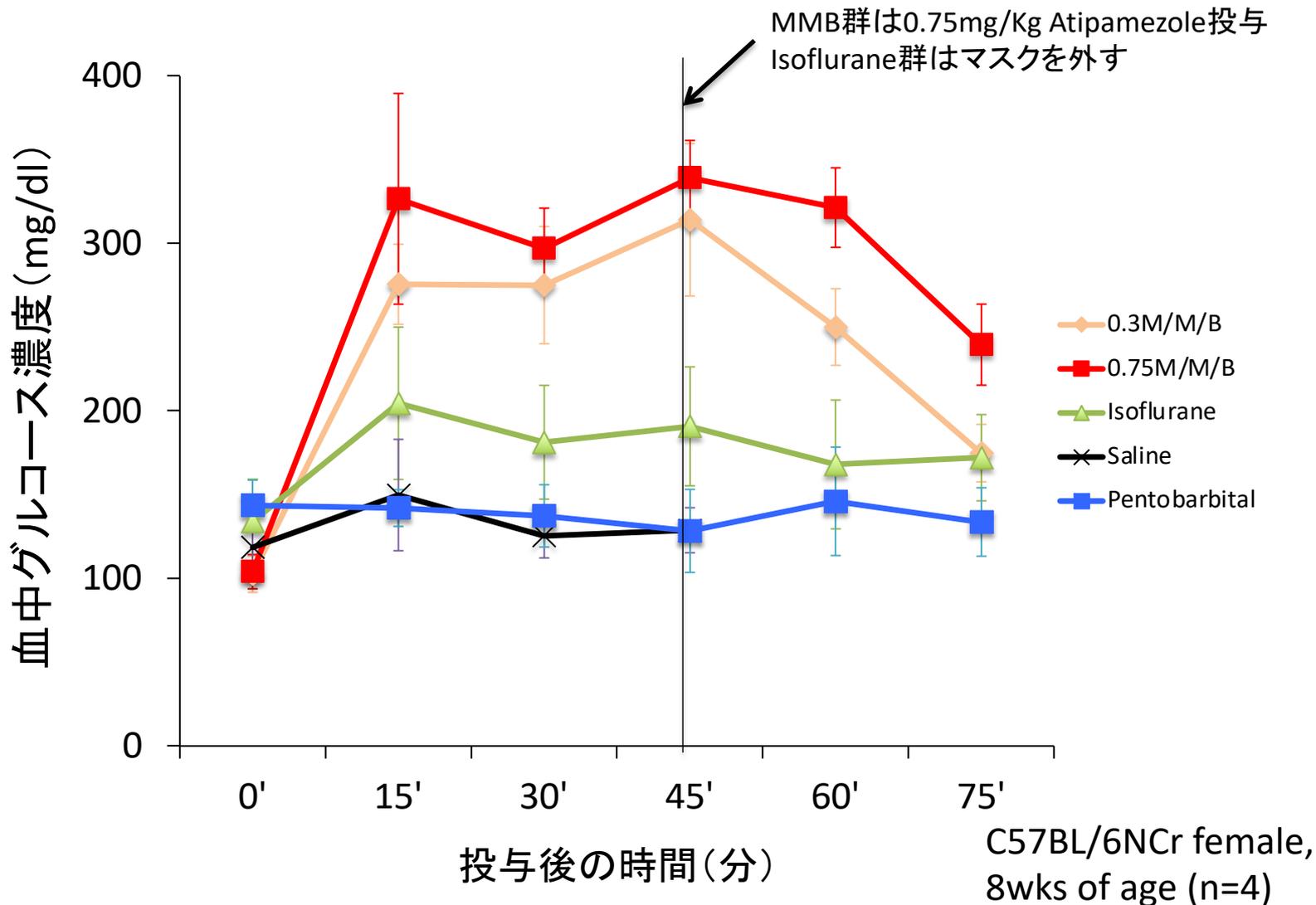
○ med+mid; メドミジン40ug/Kg +ミダゾラム0.2mg/kg BW

△ med+mid+ati; メドミジン40ug/Kg +ミダゾラム0.2mg/kg +アチパメゾール160ug/Kg

□ control; 生理食塩水投与

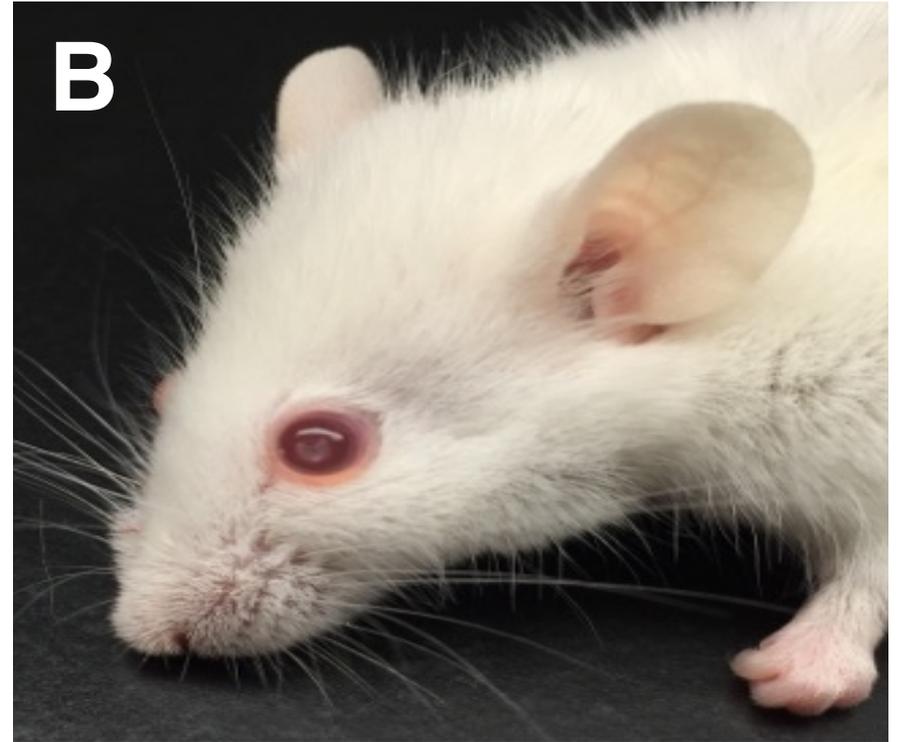
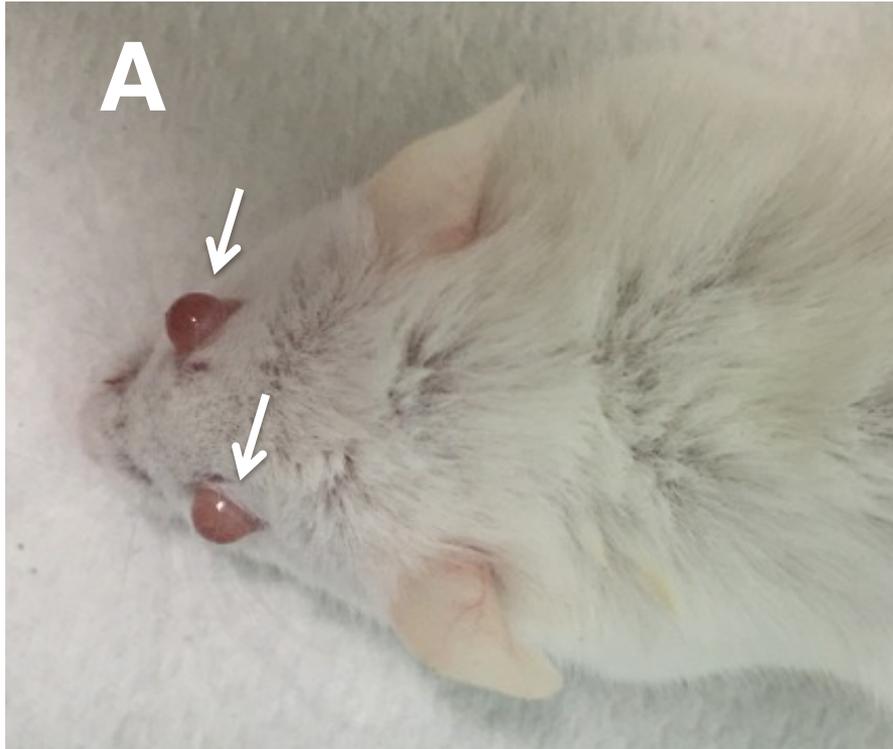
Nishimura, R et al, *JVMS*, 56, 559-561 (1994)

各麻酔薬の血糖値に与える影響



MMB群は麻酔投与後、著しく血糖値が上昇

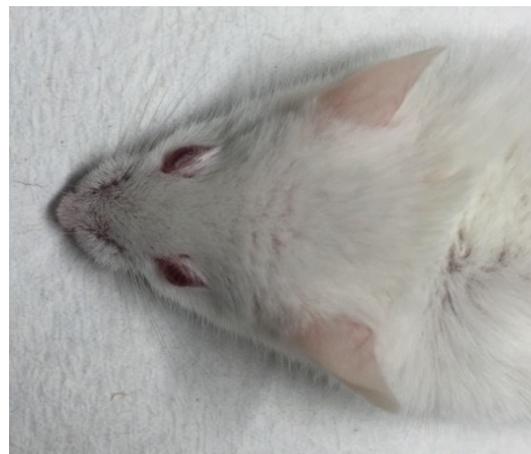
三種混合麻酔薬(0.75M/M/B)の眼球への作用



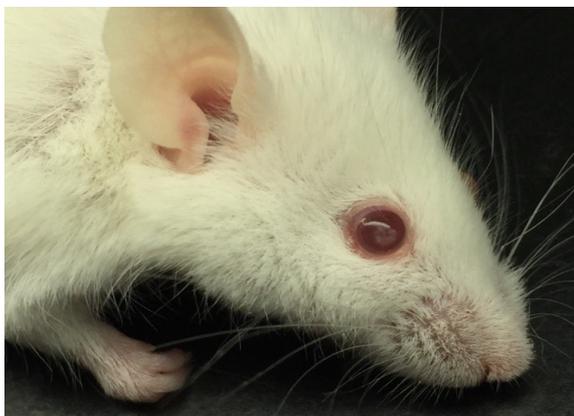
(A)全例で眼球突出が観察された(投与5分後、矢印)。(B)三種混合麻酔薬投与後に見られる急性可逆性白内障。眼球突出および白内障は共に拮抗薬投与後に全例回復した。



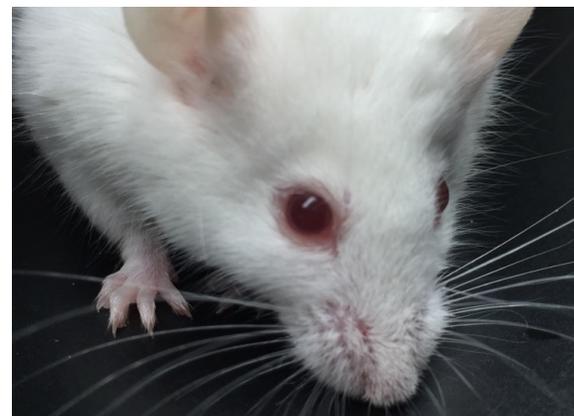
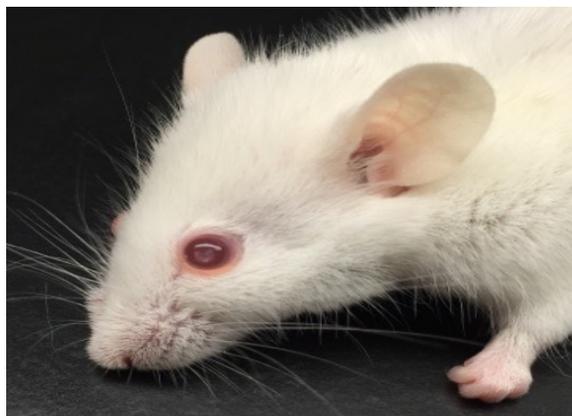
A. 三種混合麻酔投与に伴う眼球突出
(三種混合麻酔投与5分後)



B. $\alpha 2$ アドレナリン受容体拮抗薬投与による眼球の後退(硫酸アチパメゾール投与後5分)



C. 三種混合麻酔薬投与に伴う可逆性の水晶体白濁
(三種混合麻酔投与後50分)



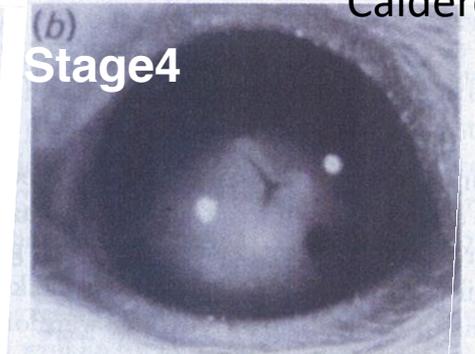
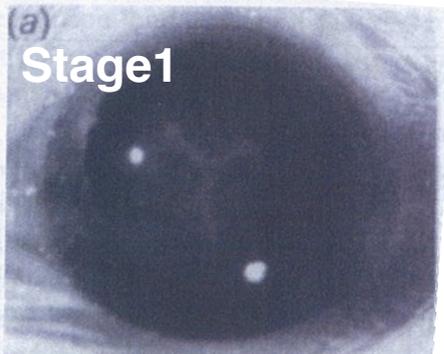
D. $\alpha 2$ アドレナリン受容体拮抗薬投与による水晶体白濁の改善(硫酸アチパメゾール投与後50分)

LABIO 21, No.66 Oct, 2016

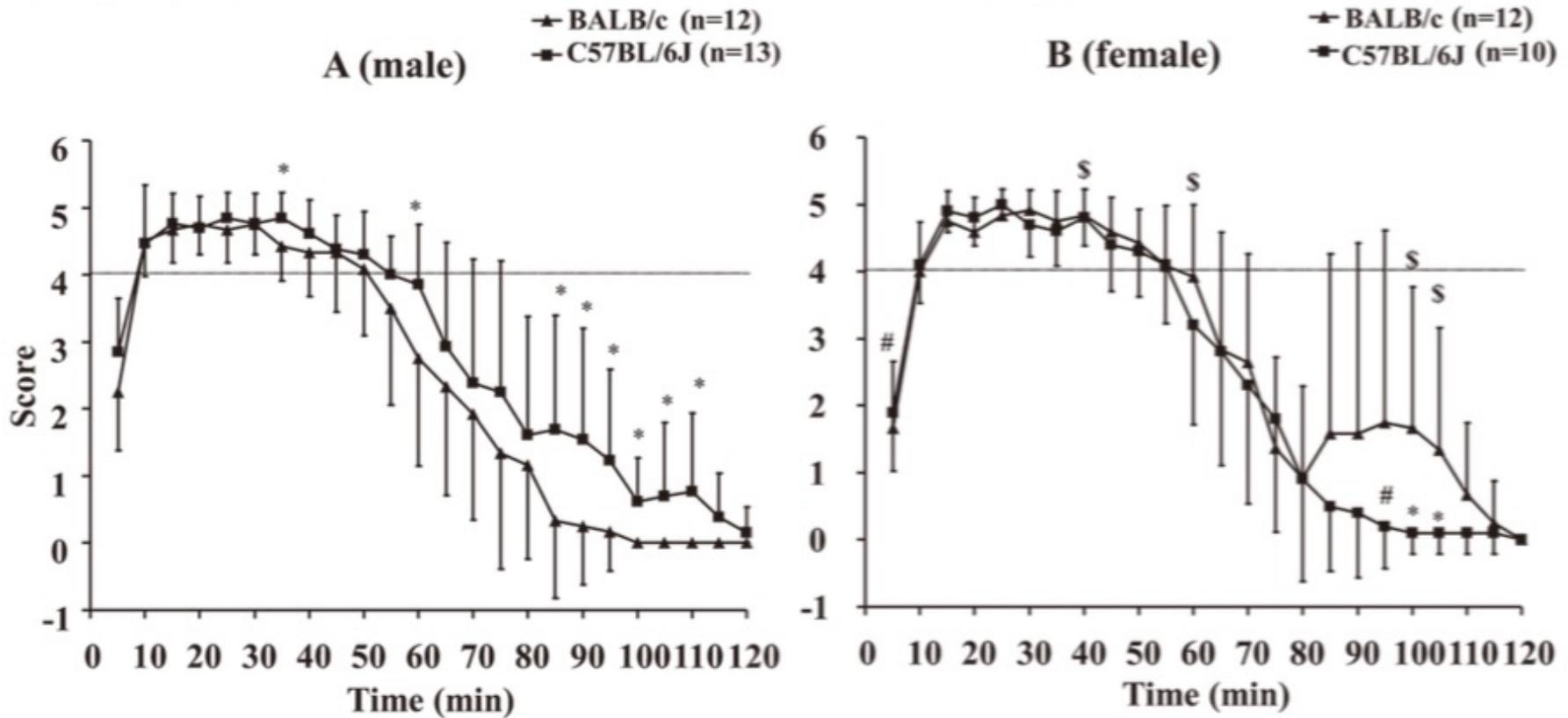
Incidence of cataract in rats and mice treated systemically with ketamine (87mg/kg) and/or xylazine (13mg/kg)

	Incidence of affected animals eyes		Incidence of different stages of cataract				
			0	1	2	3	4
Rats							
Ketamine-xylazine	10/10	19/20	1	5	7	6	1
Xylazine	4/5	8/10	2	0	8	0	0
Ketamine	0/5	0/10	10	0	0	0	0
Mice							
Ketamine-xylazine	8/8	13/16	3	3	6	4	0
Xylazine	4/5	5/10	5	0	4	1	0
Ketamine	0/5	0/10	10	0	0	0	0

Calderone, L. et.al, 42, 331-337, *Exp.Eye.Res* (1986)



三種混合麻酔薬の最適な処方量は？



0.3M/M/Bは外科的麻酔時間に達するまでに、10-15分かかる。
 注射後15分程度、麻酔導入時間を十分に取る。

Kirihara, Y. et al, 62,173-180, *Exp.Anim.* (2013)

三種混合麻酔薬の最適な処方量は？

Blood biochemical changes in mice after administration of a mixture of three anesthetic agents
Ochiai, Y. et al, 78, 951-956 *JVMS* (2016)

Table 1. List of drugs used in this study

Group name	Drug	Product concentration	Agent dose	Administration route
Control	Saline	–	–	subcutaneous
Iso sa (+)	Saline	–	–	subcutaneous
	Isoflurane	2%	4 l/min	inhalation
	Atipamezole*	5.0 mg/ml	1.8 mg/kg	subcutaneous
Iso sa (–)	Isoflurane	2%	4 l/min	inhalation
MMB Low	Medetomidine	1.0 mg/ml	0.45 mg/kg	subcutaneous
	Midazolam	5.0 mg/ml	6.0 mg/kg	
	Butorphanol	5.0 mg/ml	7.5 mg/kg	
	Atipamezole*	5.0 mg/ml	0.9 mg/kg	
MMB High	Medetomidine	1.0 mg/ml	0.9 mg/kg	subcutaneous
	Midazolam	5.0 mg/ml	12.0 mg/kg	
	Butorphanol	5.0 mg/ml	15.0 mg/kg	
	Atipamezole*	5.0 mg/ml	1.8 mg/kg	
Pent	Pentobarbital sodium	64.8 mg/ml	48.6 mg/kg	intraperitoneal
K / X	Ketamine	50 mg/ml	75 mg/kg	intraperitoneal
	Xylazine	20 mg/ml	10 mg/kg	
Med	Medetomidine	1.0 mg/ml	0.9 mg/kg	
Mid	Midazolam	5.0 mg/ml	12.0 mg/kg	subcutaneous
But	Butorphanol	5.0 mg/ml	15.0 mg/kg	

1.5倍量
外科手術ができる
最低限の濃度

3倍量
死に至らしめない
最大量

Atipamezole* is only administrated in Experiment 3.

営利目的でのご利用はご遠慮ください

注射用麻酔薬-アルファキサン

神経刺激性ステロイド分子であるアルファキサンは、プロポフォールと同様にGABA_A受容体に作用して麻酔作用を発揮する。1971年にアルファキサン/アルファドロン合剤として製剤化されたが、使用された溶媒(ヒマシ油誘導体)によって重篤なアレルギー反応を生じ、販売中止となった。しかし、1990年代後半に、安全性の高いシクロデキストリンを溶媒とした製剤が開発され、わが国でも犬猫の麻酔導入薬として承認された。

【利点】 速やかな導入・覚醒

刺激性無し

安全域広い・呼吸抑制少・筋弛緩

動物用医薬品

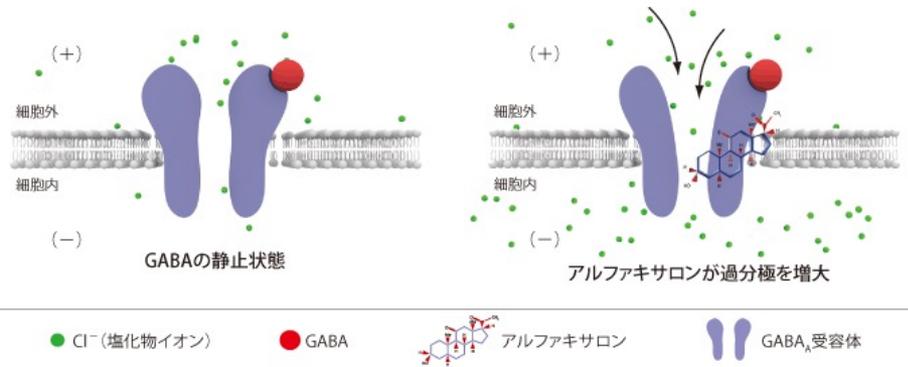
【用途・用法】

代謝が早いため、長時間維持麻酔可能

筋肉内投与で不動化

← 静脈内投与のプロポフォールより使いやすい

営利目的でのご利用はご遠慮ください



<https://www.meiji-seika-pharma.co.jp/animalhealth/ca/doctor/alfaxan/>

www.icrweb.jp

Anesthetic effect of a mixture of alfaxalone, medetomidine, and butorphanol for inducing surgical anesthesia in ICR, BALB/c, and C57BL/6 mouse strains

Tsukamoto Y et al, *J. Vet. Med. Sci.* 81(6): 937–945, 2019 doi: 10.1292/jvms.18-0712

メデトミジン、アルファキサロン、ブトルファノールの3剤が、
ICR, BALB/cおよびC57BL/6の麻酔に有用である



MMB: メデトミジン 0.3mg/kg, ミダゾラム 4mg/kg, ブトルファノール 5mg/kg

MBA30:メデトミジン 0.3mg/kg, アルファキサロン 30mg/kg ブトルファノール 5mg/kg,

営利目的でのご利用はご遠慮ください

www.icrweb.jp