

犬と猫におけるオピオイドの中樞神経作用の比較

東京大学大学院 農学生命科学研究科

獣医学専攻 博士課程 高度医療科学研究室

平成19年度進学

鎌田正利

目次

第1章		
緒言		1
第2章		
モルヒネ、フェンタニルの静脈内単回投与が犬と猫の意識および行動におよぼす影響		10
材料と方法		12
結果		15
考察		17
図表		21
第3章		
フェンタニル持続投与が犬と猫のイソフルランの Minimum alveolar concentration of blocking adrenergic responses (MAC-BAR) におよぼす影響		27
材料と方法		30
結果		36
考察		39
図表		44
第4章		
犬と猫の手術症例におけるフェンタニルの侵害刺激遮断効果の検討		53
材料と方法		56
結果		60
考察		62
図表		67

第5章		
犬と猫におけるモルヒネ、フェンタニル、レミフェンタニルの薬物動態の比較		74
材料と方法		76
結果		82
考察		84
図表		94
第6章		
総括		100
謝辞		105
参考文献		106

第 1 章

緒言

人類は長年、痛みと付き合いながら痛みに関心を寄せてきた。紀元前 3 世紀にアリストテレスが、痛みは不快を表す感情(情動)の 1 つであるとし、痛みは情動であるという概念が一般的となった。17 世紀にデカルトは、痛みは特別な受容器と伝導路をもつ感覚の 1 つであるという概念を提唱したが、以後も痛みが情動なのか感覚なのかは定まらなかった。1979 年、International Association for the Study of Pain (IASP) は、痛みを「実質的または潜在的な組織損傷に結びつく、あるいはこのような損傷を表わす言葉を使って述べられる不快な感覚および情動体験である」と定義した (IASP, 1979)。

痛み(疼痛)はその原因により侵害受容性疼痛、神経因性疼痛、心因性疼痛に分けられるが、獣医療において問題となるのは、「組織を実質的に傷害するか、あるいは傷つける可能性のある刺激」すなわち侵害刺激によって生じる侵害受容性疼痛が大部分である。侵害受容性疼痛は、まず組織への侵害刺激あるいは組織の損傷により、侵害刺激に対して特異的に反応する末梢の感覚受容器である侵害受容器が興奮することから始まる。この受容器には、様々な受容体が含まれているが、中でも TRPV1 や TRPA1 などの TRP 受容体スーパーファミリーが中心的役割を果たしているものと考えられており、種々の刺激によりこれらの受容体が興奮すると活動電位が発生する (Cortright et al., 2009)。この活動電位は、1 次求心性神経である有髄 A δ 線維あるいは無髄 C 線維といった侵

害受容線維に伝達され、さらに脊髄後根神経節を介して脊髄後角まで到達すると、グルタミン酸やサブスタンス P などの神経伝達物質を放出する。これらの神経伝達物質は、脊髄侵害受容ニューロンに存在する AMPA 受容体や NK1 受容体に結合して刺激を伝達するが、これらの刺激はさらに脊髄の腹外側から延髄および中脳を通る脊髄視床路を上行し、視床の特殊感覚中継核に入力される。視床に伝達された刺激はさらに上行して大脳皮質感覚野に入力することで、最終的に痛みとして認識される。脳に伝達された侵害刺激のシグナルは「痛い」という感覚だけでなく、同時に不快、不安、恐怖、苦しみ、怒り、悲しみ、沈鬱など様々な情動の変化も引き起こす。

痛みは侵害刺激が加わった瞬間だけに生じるものではなく、末梢性と中枢性の増幅機構により刺激後も持続し、ときにはより激しいものとなることで様々な問題を引き起こす。侵害受容器で生じた活動電位は上行性に伝達されるが、一部が侵害受容線維の分岐部で軸索反射により逆行性に末梢に到達し、そこでサブスタンス P などの化学物質が分泌され、ヒスタミン遊離、発痛物質産生、血管拡張を引き起こす。また、組織の損傷によりプロスタグランジン、ブラジキニンなどの発痛物質あるいは発痛増強物質が産生され、侵害刺激に対する侵害受容器の閾値が著しく低下する (Stein et al., 2009)。これが末梢性痛覚過敏のメカニズムと考えられている。一方、中枢においては、無髄性知覚神経である C 線維への頻回の侵害刺激入力による脊髄後角ニューロンの反応性の増強 (wind up 現象) や、A β 線維により伝達される非侵害刺激 (触覚) が侵害刺激として受容されるようになる (アロディニア) ことで痛覚過敏が生じる (Latremoliere and Woolf, 2009)。

痛みが生じるような刺激が生体に加わると、痛みを回避あるいは生体を防御するための様々な行動の変化や神経内分泌反応が引き起こされる。行動の変化

としては、屈曲反射などの反射性の行動あるいは痛みの認知による防御行動などが生じる。一方、神経内分泌反応としては、侵害刺激に即時的に反応する心拍数・血圧の上昇などの交感神経系刺激や副腎髄質刺激によるカテコラミン濃度の上昇、これらに遅れて発現するコルチゾール、甲状腺ホルモン、抗利尿ホルモン濃度等の上昇のほか、糖代謝系の変化や水分、電解質バランスの変化など様々な反応が生じる (Clarke, 1970; Halter and Pflug, 1980; Philbin and Coggins, 1978; Reier et al., 1973; Roizen et al., 1981)。痛みは組織の損傷あるいは損傷の可能性を知らせる役割を果たし、生体防御機構として必要不可欠なものである。また、痛みにより引き起こされる神経内分泌反応も、侵襲の加わった生体の内部環境を整え、恒常性を維持する合目的反応である。しかし、過剰な痛みあるいは持続的な痛みは、生体にとって大きな苦痛であるばかりでなく、それによって引き起こされる反応は、もはや合目的な意味を失い、生体に大きな負担をかけることになる。Stone らは手術中の高血圧を治療した患者では治療しなかった患者よりも、術後の心筋虚血の発生率が低かったことを報告している (Stone et al., 1988)。また、Yeager らは開胸・開腹・心血管系の手術を行った患者のうち、術後の尿中コルチゾール排泄量が少ない患者は、排泄量が多い患者よりも術後の合併症発生率が低く、入院期間の短縮、入院費の削減が認められたことを報告している (Yeager et al., 1987)。これらのことから、侵害刺激により引き起こされる神経内分泌反応は生体防御に必要不可欠ではあるが、過剰な反応は抑制することが必要であると考えられる。一方、これらの反応を、疼痛の有無あるいはその程度を判断する手がかりとして利用することもできる。例えば覚醒時には、動物ではホットプレート試験で観察される行動、人では言語的あるいは非言語的な表現や、痛みを回避する行動で疼痛の有無や程度を評価することができる。また、神経内分泌系反応は、意識消失時にも侵

害刺激の程度の評価に利用可能である。

前述のように痛みは生体防御に必要不可欠なものであるが、過剰な痛みあるいは持続する痛みは生体を疲弊させる。このため、生体には痛みを伝達する機構だけでなく、これを軽減するための内因性抑制機構も存在する。その1つが脊髄レベルでのゲートコントロールと呼ばれるものである。1965年にMelzackらは、痛みの刺激が知覚神経である有髄A δ 線維や無髄C線維から脊髄侵害受容ニューロンに伝達される時に、同時に非侵害受容性の1次求心性神経A β 線維が興奮すると抑制性の刺激が脊髄侵害受容ニューロンに入力され、痛みの伝達が軽減されるというゲートコントロール説を発表した(Melzack and Wall, 1965)。その後ゲートコントロール説だけでは説明できない現象が明らかとなり、1969年から1979年にかけて様々な研究が行われた結果、中脳中心灰白質や橋外側被蓋部を中心とした下行性抑制系の存在が明らかにされた(Basbaum and Fields, 1979; Henry, 1989)。下行性の抑制系の中心を担う中脳中心灰白質には、視床下部、扁桃核、脳幹より求心性線維が入力しており、中脳中心灰白質に刺激が加わると延髄大縫線核や大細胞性網様核を介してセロトニンが放出され、脊髄後角のセロトニン受容体に作用して侵害受容ニューロンが選択的に抑制される(Henry, 1989)。この抑制系は、内因性にはあまり強力なものではなく、例えば術後鎮痛を十分軽減するほどの作用は持たない。しかし、その後さらに研究が進められ、モルヒネなどのオピオイドをクモ膜下腔に投与したときの鎮痛作用は、主として中脳中心灰白質を起点とする下行抑制系の賦活化によりもたらされることが明らかとなった(Dray and Nunan, 1987)。その他、橋外側被蓋に刺激が加わると吻側延髄腹側部を介してノルアドレナリンが放出され、シナプス前後膜の α_2 アドレナリン受容体に作用して脊髄後角の侵害受容ニューロンを抑制するこ

とも明らかとなった (Henry, 1989)。

古代より人類は、ケシなどの鎮痛作用を持つ植物を利用し、痛みを和らげることに尽力してきた。痛みとの戦いは、人類の歴史の 1 つの側面ともいえる。人類が利用してきた様々な鎮痛剤の中で、現在、最も重要で広く用いられているのがオピオイドである。オピオイドは、オピオイド受容体に結合し、モルヒネ様作用を発揮する天然または合成薬剤、内因ペプチド及びそれらの拮抗物質の総称である。オピオイドの概念が生まれたのは近代に入ってからであるが、人類とオピオイドとの関わりは古く、数千年前よりケシの実から取れる鎮痛および睡眠作用のある液体を使用していたことが知られている。ケシの実から取れる乳液を乾燥させた粉末はアヘン (opium) と呼ばれ、モルヒネ、コデイン、テバイン、パパベリンを始めとして 20 種類以上のアルカロイドを含んでおり、すでに紀元前 300 年頃の書物には、アヘンを医療用に使用したという記録が残されている。以後もアヘンは鎮痛薬あるいは睡眠薬として、世界中で広く利用されてきた。1803 年には、アヘンから 1 種類のアルカロイドが単離され、ギリシャ神話の夢の神である「Morpheus」にちなんでモルヒネと名づけられた。当時のモルヒネは高価であり、鎮痛薬としての利用はなかなか進まなかったが、1852 年に注射筒と注射針が開発されたことをきっかけに、その利用が広まった。モルヒネは強力な鎮痛作用を持つ一方で、嘔吐や掻痒、ヒスタミン遊離作用などの副作用も多く、作用時間の長さも相まって副作用が重要な問題であった。そこで、より強力な鎮痛作用と副作用の軽減を求めて、モルヒネの単離後もアヘンからの天然オピオイドの単離あるいは合成オピオイドの開発が進められ、多様なオピオイドが医療現場では用いられるようになった。その結果、1963 年には合成オピオイドであるフェンタニルが開発された (Janssen et al., 1963)。フェンタニルは力価がモルヒネの約 100 倍と強力であり、モルヒネと比較して

作用時間が短くて嘔吐などの副作用も少ないことから、現在の医療において広く用いられている。さらに 1976 年には力価がモルヒネの 1000 倍で作用時間がより短いスフェンタニル、1979 年には力価はフェンタニルの 1/5 程度であるものの作用時間がさらに短いアルフェンタニル、1991 年には力価がフェンタニルの 1/2 程度であるが、非特異的エステラーゼによる代謝されるため作用時間が非常に短いレミフェンタニルが開発され、投与時の調節の簡便さによりフェンタニルとともに広く使用されるようになってきている (de Castro et al., 1979; Janssen et al., 1991; Niemegeers et al., 1976)。強力な鎮痛作用をもつオピオイドの臨床応用により疼痛管理は大きく改善されたが、その他にもオピオイドの大量投与により安定した循環動態が得られることから、心臓手術麻酔の進歩にも寄与した (Lowenstein et al., 1969; Stanley and Webster, 1978)。オピオイドは、現在ではバランス麻酔の概念に基づく麻酔管理に必要な薬剤となっている。

モルヒネに代表されるオピオイドは鎮痛作用の他にも、鎮静作用、多幸感、せん妄、呼吸抑制作用、ヒスタミン遊離作用、鎮咳作用、消化管蠕動抑制作用、利尿作用、縮瞳、徐脈など様々な生理作用を発揮する。1970 年代までは、モルヒネをはじめとするアヘンアルカロイドはオピエートと呼ばれ、鎮痛作用や睡眠作用を発揮することが知られていたが、その作用機構は不明であった。1973 年に Pert、Simon、Terenius がそれぞれ放射性リガンドを用いた実験により、マウス、ラットの脳内およびモルモットの腸でオピエート受容体を発見した (Pert and Snyder, 1973; Simon et al., 1973; Terenius, 1973)。次いで 1975 ~1976 年にかけて、ウシやブタの脳組織からオピエート受容体に対する内因性リガンドとしてエンケファリンや β エンドルフィンが発見された (Hughes et al., 1975; Simantov and Snyder, 1976)。以後、オピオイド受容体に結合し、モ

ルヒネ様作用を発揮する天然または合成薬剤、内因オピオイドペプチド及びそれらの拮抗物質を総称してオピオイドと呼ぶようになったが、これらの受容体とそのリガンドの発見によりオピオイドに関する研究は急速に進んだ。1976年に Gilbert らはオピオイド受容体には μ 、 κ 、 δ の 3 種類のサブタイプが存在することを明らかとした (Gilbert and Martin, 1976)。さらに 1990 年初頭には、マウスで μ 、 κ 、 δ オピオイド受容体の cDNA がクローニングされた (Chen et al., 1993; Evans et al., 1992; Yasuda et al., 1993)。オピオイド受容体は 7 回膜貫通 G タンパク共役型受容体であり、オピオイドが結合することで Gi/o タンパクを介し、アデニル酸シクラーゼの活性抑制による細胞内 cAMP 生成量の減少、Ca²⁺チャネルの開口抑制による細胞内 Ca²⁺濃度の低下、K⁺チャネルの開口促進による過分極を引きおこし、細胞の興奮を抑制することが知られている (Minami and Satoh, 1993)。また、オピオイドの鎮痛作用は、多様な作用点を持ち、末梢および中枢神経系の様々な部位に存在するオピオイド受容体を介して発現することも明らかとなっている。すなわち脊髄後角ニューロンにおけるシナプスでは、前シナプスにおける神経伝達物質の放出抑制、後シナプスにおける直接的抑制を引き起こすことにより末梢神経から中枢神経への侵害刺激伝達を遮断する (Stein and Lang, 2009)。さらに中脳や延髄に存在するオピオイド受容体を介して下行抑制系を賦活化して、脊髄後角における侵害刺激伝達を抑制する (Dray and Nunan, 1987)。その他にも、視床、視床下部、大脳皮質にも作用すること、末梢神経にもオピオイド受容体が存在し、これを介しても鎮痛作用を示すことなどが明らかとなった (Stein et al., 2009)。オピオイドの鎮痛作用機構に関しては更なる研究が進められており、Hashimoto らは、モルヒネやフェンタニルが神経細胞における活動電位の発生や軸索伝導に主要な役割を果たす電位依存性 Na⁺チャネルに作用して Na⁺電流の抑制を引きおこす可能

性を示している (Hashimoto et al., 2009)。

オピオイドは非常に強力な鎮痛作用を持つが、人ではその鎮痛作用あるいは副作用の程度には個体差が大きいことも知られており、Aubrun らは術後鎮痛に投与されたモルヒネの量が患者により 40 倍近く異なつたことを報告している (Aubrun et al., 2003)。現在、モルヒネの作用に個体差が生じる要因として個体ごとの遺伝的背景に関心が集まっており、オピオイド受容体あるいは代謝酵素の遺伝子多型に関する研究が進められている。オピオイド受容体の遺伝子多型については、人種ごとに特徴があること、オピオイドとの親和性に違いがあること、あるいはオピオイドの要求量やオピオイドの血中濃度および副作用の発現頻度に違いがあることが報告されている (Bond et al., 1998; Chou et al., 2006; Nhisizawa et al., 2006; Sia et al., 2008)。また、Starmer らは代謝酵素の遺伝子多型が、オピオイド要求量に影響することを報告している (Starmer et al., 2003)。

現在、日本国内では合わせて 2000 万頭以上の犬や猫が家庭で飼育されているが、近年家庭で飼育されている犬や猫は、愛玩動物のみならず伴侶動物として人間との結びつきがより強くなっており、これらの動物の疼痛管理に対する関心あるいは重要性は非常に高くなってきている。また、獣医療の進歩に伴い高度かつ侵襲の大きな手術が行われ、動物の高齢化に伴う癌患者も増加していることから、獣医療における疼痛管理の重要性は、今後さらに増していくと考えられる。現在、獣医療における最も重要な鎮痛薬はオピオイドである。オピオイドは、犬に対しては強力な鎮痛作用だけでなく鎮静作用も示すため、周術期における鎮痛薬あるいは麻酔前投与薬として積極的に広く用いられている (Capner et al., 2006; Dohoo et al., 2004; Hugonnard et al., 2004)。しかし、オピオイドは主作用の鎮痛作用に限らず、副作用にも比較的大きな動物種差が

あるとされている。例えば人、犬、猿では鎮痛作用以外に鎮静作用が発現し、猫、馬、ラット、マウスでは鎮痛作用以外に興奮作用が発現しやすいとされている (Simon and Hiller, 1978)。そのなかでも、猫では鎮痛作用の不確実性や中枢神経系興奮などの副作用に対する懸念が強く、積極的な使用が避けられる傾向が強い (Hugonnard et al., 2004; Lascelles et al 1999)。このため、猫では多くの場合十分な疼痛管理がなされていないと考えられる。Hugonnard らはフランスの獣医師たちがオピオイドを猫に投与するとき、副作用として呼吸抑制 (31%) の次に、興奮作用 (26%) を懸念し、獣医師の 60% は猫の鎮痛を満足に行えていないことを報告している (Hugonnard et al., 2004)。また、Lascelles らの報告よれば、猫にオピオイドを投与するとき、65% の獣医師が興奮作用を副作用として懸念している (Lascelles et al., 1999)。事実、多くの成書には猫におけるオピオイドの副作用について興奮作用の記述があるものの、その根拠となるデータは乏しく、またその理由についてもほとんど検討されていないのが現状である。

そこで、本研究では犬と猫におけるオピオイドの作用の違いについて明らかにするために、臨床でよく使用される μ 受容体作動薬であるモルヒネ、フェンタニル、レミフェンタニルについて以下の検討を行った。まず、モルヒネやフェンタニルの静脈内単回投与による犬と猫の意識および行動上の変化ならびに呼吸抑制や嘔吐などの副作用について検討した (第 2 章)。さらにフェンタニルの侵害刺激遮断効果を評価するため、吸入麻酔薬イソフルランによる麻酔下の犬と猫にフェンタニルを投与して侵害刺激を加えた時の自律神経反応を評価し (第 3 章)、イソフルランにフェンタニルを併用して手術を行った症例を用いて手術刺激に対する自律神経反応および神経内分泌反応を評価した (第 4 章)。さらに作用の違いが生じる原因を明らかにする目的で、モルヒネ、フェンタニル、

レミフェンタニルに関して薬物動態学の観点から検討を加えた（第 5 章）。

第 2 章

モルヒネ、フェンタニルの静脈内単回投与が犬と猫の意識および行動におよぼす影響

μ オピオイド受容体作動薬であるモルヒネやフェンタニルは、重度の疼痛に対して非常に有効な鎮痛薬であり、現在の獣医療において、コンパニオンアニマルをはじめとして、エキゾチックアニマル、動物園動物、野生動物など多くの動物種に使用されている（Capner et al., 1999; Dohoo et al., 1998; Hunter et al., 2004; Martinez et al., 2009）。しかし、 μ オピオイド受容体作動薬は強力な鎮痛作用を発揮する一方で、呼吸抑制、嘔吐、興奮、過度の鎮静などの副作用を伴う。伴侶動物として飼育されている猫と人との関わりには長い歴史があり、現在日本では約 1000 万頭の猫が飼育されているため、獣医療の対象となる機会も多く、術後などに強力な鎮痛が必要となることが多い。しかしながら、獣医師の多くは猫に対し、オピオイドの使用を避けるか、あるいは少量のオピオイドしか使用しない傾向が強い。これは猫にオピオイドを投与すると、興奮しやすいという懸念や鎮痛効果が不確実であるという懸念に基づいている。Hugonnard らの調査では、猫に対して非ステロイド系抗炎症剤を使用している獣医師が 9 割以上いるのに対し、オピオイドを使用している獣医師は 1 割にも満たなかった（Hugonnard et al., 2004）。この報告では、獣医師が猫における副作用として興奮作用を懸念していることも明らかとなったが、同時に副作用に関する情報が不足していることも指摘されている。また、Lascelles らは、オ

ピオイドの臨床用量で猫に興奮が生じるという明確な情報がないにも関わらず、6割以上の獣医師がオピオイドの興奮作用を懸念していることを報告している (Lascelles et al., 1999)。

Dhasmana や Joel らは猫に高用量のモルヒネを投与すると、“opioid mania” と呼ばれる興奮や攻撃的反応を引き起こすことを報告し、これらの報告が猫におけるオピオイドの興奮作用に対する懸念の背景となっている (Dhasmana et al., 1970; Joel and Arndts, 1925)。しかし、これらの報告では臨床用量に相当と考えられる、あるいは臨床用量として推奨されている用量を遥かに上回るオピオイドを猫に投与しているため、猫においてオピオイドの副作用として興奮作用を懸念する根拠としては信頼性が高くない可能性がある。しかし、現状では Hugonnard らや Lascelles らの報告にもあるように、オピオイドを犬における適正用量と同程度を投与しても、猫では興奮が生じやすいと考えられていることが多く、犬に比べると低用量でのオピオイド投与が推奨されることが多い (Robertson and Taylor, 2004)。しかし、実際に猫においてオピオイドによりもたらされる行動の変化や“opioid mania” について検討した報告は少なく、特に小動物臨床においてモルヒネと並び、鎮痛目的で覚醒下の犬や猫に広く用いられているフェンタニルが意識や行動および影響について検討した報告はほとんどない (Grandy and Heath, 1987)。

本章では、臨床的に用いられる用量および、それを超過する用量のモルヒネあるいはフェンタニルを、覚醒下の犬と猫に静脈内単回投与して意識状態や行動の変化を観察し、さらに呼吸抑制などの副作用についても検討した。

材料と方法

本実験は、東京大学大学院農学生命科学研究科動物実験委員会の許可を得て行った。

実験動物

身体検査および血液検査により健康と判断されたビーグル犬 6 頭（年齢（平均±標準偏差）：5.6±0.6 歳，体重（平均±標準偏差）：11.5kg±1.9kg，雌：6 頭）および猫 6 頭（年齢（平均±標準偏差）：3.3±0.3 歳，体重（平均±標準偏差）：4.3±0.6 kg，雌：3 頭，雄：3 頭）を、以下に示す実験群に繰り返し用いた。なお、同一の動物を一つの群で複数回用いることはしなかった。実験当日は実験開始の 12 時間前から絶食としたが、飲水は制限しなかった。同一の動物を繰り返し用いる際は、最低 7 日間の間隔をあけた。

実験群

コントロール群（C 群）

生理食塩水群：生理食塩水を静脈内単回投与

モルヒネ投与群（M群）

モルヒネ 0.3mg/kg（M0.3）群：モルヒネ 0.3mg/kg を静脈内単回投与

モルヒネ 0.6mg/kg（M0.6）群：モルヒネ 0.6mg/kg を静脈内単回投与

モルヒネ 1.2mg/kg（M1.2）群：モルヒネ 1.2mg/kg を静脈内単回投与

モルヒネ 2.4mg/kg (M2.4) 群：モルヒネ 2.4mg/kg を静脈内単回投与
フェンタニル投与群 (F群)

フェンタニル 5 μ g/kg (F5) 群：フェンタニル 5 μ g/kg を静脈内単回投与
フェンタニル 10 μ g/kg (F10) 群：フェンタニル 5 μ g/kg を静脈内単回投与
フェンタニル 20 μ g/kg (F20) 群：フェンタニル 5 μ g/kg を静脈内単回投与
フェンタニル 40 μ g/kg (F40) 群：フェンタニル 5 μ g/kg を静脈内単回投与

実験方法

生理食塩水の投与方法および観察項目：C群

実験は馴致を行った静かな室内で行った。実験当日に薬剤投与のために 24G 留置針 (サーフロー®F&F ; テルモ株式会社, 東京) を覚醒下で、動物の橈側皮静脈に留置した。

生理食塩水 0.8mL/kg を 1 分かけて投与し、薬剤が留置針内に残存することを防止するため、生理食塩水 1mL を追加投与した。生理食塩水の用量は、全群における投与量が等しくなるように選択した。

薬剤投与から 120 分間の行動を観察し、M 群および F 群における活動性および姿勢を評価するときの基準とした。

モルヒネの投与方法および観察項目：M群

薬剤投与までの準備は、C 群と同様に行った。モルヒネ (モルヒネ塩酸塩注射液 10mg 「第一三共」 ; 第一三共プロファーマ株式会社, 東京) 0.3、0.6、1.2、2.4mg/kg のいずれかを、投与量が 0.8mL/kg となるように生理食塩水で希釈して投与した。薬剤投与から 120 分間の行動を観察し、C 群と比較して活動性の

変化を、正常、活動性上昇、活動性低下に分けて評価した。また、姿勢は正常、腹臥、横臥に分けて評価した。薬剤投与前、薬剤投与 5、10、20、40、60、90、120 分後に心拍数と呼吸数を測定し、観察者が近づいたときの反応および保定に対する反応を評価した。その他に呼吸抑制（呼吸数減少と呼吸様式の変化）、嘔吐、排尿、排便、多幸感示す行動（頭を床や観察者にこすりつける、足踏み）についても記録した。

フェンタニルの投与方法および観察項目：F 群

薬剤投与までの準備は、C 群と同様に行った。フェンタニル（フェンタニル注射液 0.1mg「第一三共」；第一三共プロファーマ株式会社，東京）5、10、20、40 μ g/kg のいずれかを、投与量が 0.8mL/kg となるように生理食塩水で希釈して投与した。薬剤投与後の観察は、M 群と同様に行った。

統計解析

心拍数および呼吸数について、投与前の値を対照値とし、投与 5、10、20、40、60、90、120 分後の値と比較して Dunnett 法を用いて統計解析を行った。統計解析は統計解析ソフトウェア（StatView-5.0；SAS Institute Inc, Cary, NC, USA）を用いて行い、統計学的有意水準は $P < 0.05$ とした。心拍数、呼吸数は平均値 \pm 標準偏差で表記した。

結果

M 群における行動の変化を表 1 に示した。犬では、モルヒネの投与量依存性に活動性が低下する傾向を示し、M1.2、M2.4 群では 6 頭中 6 頭の活動性が低下した。姿勢も投与量依存性に变化する傾向を示し、M1.2 群では 3 頭が腹臥し、M2.4 群では 5 頭が腹臥して残りの 1 頭は横臥した。M1.2、M2.4 群で腹臥または横臥した犬には意識の消失がみとめられた。また、観察者の接近および保定に対する反応は投与量依存性に低下した。モルヒネは嘔吐や呼吸抑制を引きおこし、その数は投与量依存性に増加した。呼吸抑制は生じたものの、チアノーゼを呈する個体はいなかった。また、投与量とは関係なく、モルヒネ投与後に排便排尿が観察された。

猫では、モルヒネの投与量依存性に活動性が低下し、M0.6、M1.2、M2.4 群では 6 頭中 6 頭の活動性が低下した。犬で観察された活動性の低下とは異なり、猫ではモルヒネ投与直後から、座位のまま不動となり意識の消失もみとめられなかった。これらの個体は観察者の接近に対して多幸福感を示す行動を呈し、保定に対する反応も低下した。モルヒネを投与された猫全頭において、薬剤投与直後から散瞳がみとめられ観察終了まで持続した。嘔吐、呼吸抑制、排便排尿は猫では観察されなかった。

F 群における行動の変化を表 2 に示した。犬では、フェンタニルの投与量依存性に活動性が低下し、F40 群では 6 頭中 6 頭の活動性が低下した。姿勢も投与量依存性に变化する傾向を示し、F20 群では 4 頭が腹臥し、F40 群では 4 頭が腹臥して残りの 2 頭は横臥した。F40 群で腹臥または横臥した犬には意識の消失がみとめられたが、意識の消失時間はモルヒネよりも短時間であった。また、観察者の接近および保定に対する反応は投与量依存性に低下した。フェン

タニルは呼吸抑制を引きおこし、その数は投与量依存性に増加し、F40 群では 6 頭中 6 頭がチアノーゼを呈した。また、投与量とは関係なく、フェンタニル投与後に排便排尿が観察された。一方、嘔吐は観察されなかった。

猫では、フェンタニルの投与量依存性に活動性が上昇する傾向を示し、F20、F40 群では 6 頭中 6 頭で活動性が上昇した。これらの個体では、薬剤投与直後から落ち着きがなくなり、室内を走り回ったり飛び回ったりする行動が 2~3 分間継続したが、観察者の接近や保定に対する攻撃的な反応は観察されなかった。活動性の上昇後あるいは活動性の上昇を伴わずに多幸感を示す個体が認められたが、腹臥や横臥となり、意識を消失する個体は認められなかった。フェンタニル投与直後から全頭で散瞳となり、散瞳の継続時間は用量依存性であった。呼吸抑制、排便、排尿、嘔吐は観察されなかった。

モルヒネの投与後、犬では用量依存性に心拍数、呼吸数が低下したが、猫では明らかな傾向は認められなかった (表 3、4)。フェンタニルの投与後、犬では用量依存性に心拍数、呼吸数が低下し、猫でも同様の傾向が認められたが、犬と比較すると心拍数や呼吸数の低下は軽度であった (表 5、6)。フェンタニル投与後 60 分以降は、犬猫ともに心拍数と呼吸数が薬剤投与前とほぼ同等となったため、心拍数と呼吸数の表示は 60 分までとした。

考察

本章では犬と猫に、モルヒネあるいはフェンタニルを様々な用量で静脈内に単回投与し、意識や行動におよぼす影響を検討した。モルヒネとフェンタニルの最低用量は、犬において鎮痛を目的として静脈内に単回投与される臨床用量の上限に近い用量とした (Plum, 2008)。猫における臨床用量は犬よりも低い用量だが、行動の変化を比較するために同用量を用いた (Plum, 2008)。

モルヒネは犬の活動性を低下させ、その程度や時間は用量依存性であった。モルヒネを高用量で投与すると、多くの犬が腹臥位や横臥位となり、意識を消失する個体もみられた。モルヒネは猫の活動性も低下させたが、犬とは異なる変化が観察された。モルヒネの最低用量群以外の 3 群では、全ての猫が座位の状態のまま動かなくなりましたが、意識の低下や消失は認められなかった。本検討におけるモルヒネの用量は、猫における推奨用量 (0.1~0.2mg/kg) を大きく上回るが、“opioid mania” と呼ばれる興奮状態や攻撃反応はみられなかった。

猫における “opioid mania” を報告した過去の研究では、モルヒネの腹腔内投与により興奮、攻撃反応、さらには幻覚や発作が生じたとしている (Dhasmana et al., 1972; Joel and Arndts, 1925)。しかし、これらの研究では臨床で使用される用量を遥かに上回る用量 (5、10、20mg/kg) が投与されており、当時の臨床現場でモルヒネの投与により生じる猫の興奮は誤った過量投与が原因である可能性であることが指摘されてもいる。一方、本研究では、臨床用量および臨床用量を超過するモルヒネを静脈内投与したところ、猫で特徴的な行動の変化が生じた。高用量のモルヒネを投与すると、犬では意識レベルの低下を伴う不動化が生じたこととは対照的に、猫では覚醒した状態での、活動性の低下および不動化が生じた。今回の結果から、猫において通常の臨床用量

では、従来懸念されていた“opioid mania”と呼ばれる興奮や攻撃反応が生じる可能性は低いことが明らかとなった。

フェンタニルは犬の活動性を低下させ、その程度や時間は用量依存性であった。フェンタニルを高用量で投与すると、多くの犬が腹臥位や横臥位となり、モルヒネと比較すると短時間ではあるが意識を消失した個体も認められた。また、フェンタニルの高用量群では多くの犬で呼吸抑制が生じ、最高用量では全頭がチアノーゼを呈する重度の呼吸抑制が生じた。一方、フェンタニルは猫の活動性を上昇させ、その程度や時間は用量依存性であった。フェンタニルの投与直後から落ち着きがなくなり、2～3分間室内を動き回る様子が観察されたが、明らかな興奮状態や攻撃反応は認められず、保定に対して抵抗することもなかった。活動性の上昇は一過性であったが、その後に腹臥位や横臥位となったり、意識レベルが低下する個体もいなかった。

モルヒネおよびフェンタニルは μ オピオイド受容体の作動薬であるが、フェンタニルが μ オピオイド受容体に高い選択性を持ち、モルヒネは μ オピオイド受容体以外にも κ オピオイド受容体や δ オピオイド受容体にも親和性を有する。馬では、 μ および κ オピオイド受容体作動薬が活動性の上昇をもたらすことが知られているが、 μ オピオイド受容体作動薬による活動性の上昇作用は、 κ オピオイド受容体作動薬に比べて強いことが知られている (Mama et al., 1993)。また、ラットでは μ オピオイド受容体作動薬により引き起こされる活動性の上昇が、 κ オピオイド受容体作動薬の投与により軽減されたことが報告されている (Miaskowski et al., 1992; Sutters et al., 1990)。今回、猫においてモルヒネとフェンタニルの間に認められた反応の違いは、モルヒネとフェンタニルのオピオイド受容体への選択性の違いが関係している可能性が考えられたが、詳細な機序については、今後さらなる検討が必要である。

さらに、オピオイド投与により呼吸や循環に生じる変化にも、犬と猫では違いが認められた。モルヒネとフェンタニルは、犬では用量依存性に呼吸様式の変化や呼吸数の減少を引き起こしたが、猫では明らかな呼吸様式の変化や呼吸数の減少は生じなかった。また、犬猫ともにモルヒネとフェンタニルを投与すると、心拍数が減少する傾向を示したが、猫の心拍数減少は犬と比較すると軽度であった。これらの結果から、オピオイドの呼吸中枢抑制作用および迷走神経刺激作用にも犬と猫では違いがあることが示唆された。

小動物臨床で、覚醒下の犬猫に鎮痛薬として広く使用される μ オピオイド受容体作動薬であるモルヒネとフェンタニルが意識や行動に与える影響には、犬と猫で違いが認められた。臨床用量あるいは臨床用量を超過する用量のモルヒネを静脈内に単回投与すると、犬では意識レベルの低下を伴う活動性の低下が生じ、猫では意識レベルの低下を伴わない不動化が生じた。今回検討した用量では、猫において“opioid mania”と呼ばれている興奮状態や攻撃的反応は観察されなかった。臨床用量あるいは臨床用量を超過する用量のフェンタニルは、犬では意識レベルの低下を伴う活動性の低下をもたらした、猫には一過性の活動性上昇をもたらしたが、モルヒネを投与したときと同様に“opioid mania”と呼ばれている興奮状態や攻撃反応は観察されなかった。

オピオイドにより引き起こされる行動の変化に種差が生じる原因は中枢神経系におけるオピオイド受容体の分布の違いが一因であると考えられる。オピオイドは犬では活動性の低下をもたらすが、馬では活動性の上昇をもたらすことが知られている。Hellyerらは馬と犬の大脳皮質、体性感覚野、中脳、小脳において μ 受容体と κ 受容体の分布を比較し、馬と犬では各部位において受容体の分布の違いが認められたことを報告している (Hellyer et al., 2003)。今回、犬と猫においてオピオイドによる行動の変化には違いが認められたが、この違い

を解明するためには、オピオイドの薬物動態、オピオイド受容体の解剖学的な分布、オピオイド受容体の機能の比較検討を行う必要があると考えられる。

また、今回の検討では、犬と同用量のフェンタニルやモルヒネを猫に静脈内投与しても、“opioid mania “と呼ばれる興奮や攻撃的反応が生じなかったことから、フェンタニルやモルヒネの侵害刺激遮断作用について検討する必要があるものの、臨床において猫に対するフェンタニルあるいはモルヒネの、より積極的な使用および、より効果的な疼痛管理が可能となることも示唆された。

表 1 犬猫におけるモルヒネ静脈内単回投与後の行動変化

観察項目	モルヒネ投与量 (mg/kg)							
	犬 (n = 6)				猫 (n = 6)			
	0.3	0.6	1.2	2.4	0.3	0.6	1.2	2.4
活動性								
正常	4	3	0	0	2	0	0	0
低下	2	3	6	6	4	6	6	6
上昇	0	0	0	0	0	0	0	0
姿勢								
正常	6	5	3	0	6	6	6	6
腹臥位	0	1	3	5	0	0	0	0
横臥位	0	0	0	1	0	0	0	0
多幸福感	0	0	0	0	3	6	6	6
嘔吐	1	1	2	3	0	0	0	0
散瞳	0	0	0	0	6	6	6	6
排便	3	2	2	4	0	0	0	0
排尿	1	3	2	1	0	0	0	0
呼吸抑制	1	1	2	6	0	0	0	0
チアノーゼ	0	0	0	0	0	0	0	0

注1) 薬剤投与後 120 分間に該当項目が観察された頭数を表記

注2) 活動性および姿勢の変化は、生理食塩水投与後の行動を基準とした

注3) 呼吸抑制は呼吸様式の変化や呼吸数の減少を基準とした

表 2 犬猫におけるフェンタニル静脈内単回投与後の行動変化

観察項目	フェンタニル投与量(μg/kg)							
	犬(n=6)				猫(n=6)			
	5	10	20	40	5	10	20	40
活動性								
正常	4	4	2	0	4	3	0	0
低下	2	2	4	6	0	0	0	0
上昇	0	0	0	0	2	3	6	6
姿勢								
正常	5	4	2	0	6	6	6	6
腹臥位	1	2	4	4	0	0	0	0
横臥位	0	0	0	2	0	0	0	0
多幸福感	0	0	0	0	2	3	4	3
嘔吐	0	0	0	0	0	0	0	0
散瞳	0	0	0	0	6	6	6	6
排便	1	4	4	4	0	0	0	0
排尿	1	3	3	3	0	0	0	0
呼吸抑制	0	0	5	6	0	0	0	0
チアノーゼ	0	0	0	6	0	0	0	0

注1) 薬剤投与後 120 分間に該当項目が観察された頭数を表記

注2) 活動性および姿勢の変化は、生理食塩水投与後の行動を基準とした

注3) 呼吸抑制は呼吸様式の変化や呼吸数の減少を基準とした

表 3 猫におけるモルヒネ静脈内単回投与後の心拍数、呼吸数の変化

群	投与後経過時間(分)							
	投与前	5	10	20	40	60	90	120
心拍数								
(回/分) M0.3	165 ± 15	157 ± 8	157 ± 12	158 ± 17	162 ± 25	165 ± 21	168 ± 27	163 ± 24
M0.6	154 ± 8	146 ± 13	146 ± 6	148 ± 11	152 ± 10	151 ± 6	153 ± 8	161 ± 9
M1.2	158 ± 20	147 ± 26	148 ± 32	150 ± 28	155 ± 39	152 ± 33	157 ± 35	155 ± 29
M2.4	161 ± 18	158 ± 17	158 ± 18	159 ± 12	147 ± 13	147 ± 16	160 ± 20	152 ± 19
呼吸数								
(回/分) M0.3	32 ± 5	31 ± 5	28 ± 4	28 ± 6	31 ± 4	34 ± 4	32 ± 5	34 ± 3
M0.6	33 ± 5	23 ± 2*	31 ± 4	30 ± 4	31 ± 3	29 ± 4	33 ± 4	31 ± 4
M1.2	35 ± 3	31 ± 4	31 ± 4	30 ± 5	27 ± 6	29 ± 7	28 ± 6	29 ± 4
M2.4	30 ± 4	33 ± 5	28 ± 5	31 ± 7	35 ± 9	33 ± 8	30 ± 4	29 ± 9

注1) 平均値±標準偏差

注2) * 投与前と比較して有意差あり (Dunnett 法、P<0.05)

表 4 犬におけるモルヒネ静脈内単回投与後の心拍数、呼吸数の変化

群	投与後経過時間(分)									
	投与前	5	10	20	40	60	90	120		
心拍数										
(回/分)										
M0.3	143 ± 25	130 ± 29	130 ± 26	119 ± 32	111 ± 16	113 ± 19	117 ± 20	132 ± 21		
M0.6	134 ± 20	120 ± 23	117 ± 20	113 ± 17	106 ± 21	104 ± 16	108 ± 16	119 ± 22		
M1.2	128 ± 19	113 ± 25	108 ± 20	114 ± 13	102 ± 25	98 ± 25	102 ± 18	118 ± 17		
M2.4	134 ± 28	108 ± 19	71 ± 5*	72 ± 12*	78 ± 15*	88 ± 20*	98 ± 19	102 ± 11		
呼吸数										
(回/分)										
M0.3	30 ± 3	30 ± 6	31 ± 9	32 ± 3	30 ± 2	32 ± 3	31 ± 4	30 ± 4		
M0.6	37 ± 7	28 ± 3	32 ± 10	25 ± 3	26 ± 6	31 ± 6	29 ± 3	30 ± 2		
M1.2	34 ± 5	26 ± 7	24 ± 3	28 ± 3	24 ± 5	23 ± 5	27 ± 5	27 ± 5		
M2.4	30 ± 5	26 ± 2	25 ± 2	20 ± 4	20 ± 5	22 ± 3	24 ± 3	26 ± 2		

注1) 平均値±標準偏差

注2) * 投与前と比較して有意差あり (Dunnett 法、P<0.05)

表 5 猫におけるフエンタニル静脈内単回投与後の心拍数、呼吸数の変化

群	投与後経過時間(分)					
	投与前	5	10	20	40	60
心拍数 (回/分)						
F5	167 ± 16	160 ± 8	157 ± 17	164 ± 15	171 ± 19	168 ± 15
F10	170 ± 12	144 ± 13	151 ± 16	149 ± 16	160 ± 10	156 ± 11
F20	173 ± 10	154 ± 21	141 ± 18*	136 ± 16*	146 ± 9	156 ± 14
F40	172 ± 11	152 ± 13	143 ± 17	156 ± 23	156 ± 28	169 ± 18
呼吸数 (回/分)						
F5	33 ± 3	31 ± 3	28 ± 3	35 ± 2	34 ± 8	35 ± 4
F10	33 ± 5	24 ± 5	25 ± 6	32 ± 7	30 ± 5	30 ± 4
F20	32 ± 6	31 ± 9	28 ± 5	34 ± 5	33 ± 4	34 ± 3
F40	38 ± 6	29 ± 7	25 ± 5*	30 ± 8	33 ± 7	35 ± 3

注1) 平均値±標準偏差

注2) * 投与前と比較して有意差あり (Dunnnett 法、 $P < 0.05$)

表 6 犬におけるフエンタニル静脈内単回投与後の心拍数、呼吸数の変化

群	投与後経過時間(分)						
	投与前	5	10	20	40	60	
心拍数 (回/分)							
F5	138 ± 31	118 ± 27	114 ± 32	125 ± 34	132 ± 31	137 ± 28	
F10	128 ± 19	97 ± 26	95 ± 23	107 ± 32	116 ± 32	123 ± 22	
F20	137 ± 31	86 ± 21	78 ± 18	94 ± 28	110 ± 36	125 ± 36	
F40	126 ± 18	59 ± 5*	56 ± 13*	64 ± 19*	82 ± 21*	97 ± 20	
呼吸数 (回/分)							
F5	35 ± 3	26 ± 2	30 ± 10	35 ± 8	40 ± 11	33 ± 7	
F10	30 ± 6	22 ± 6	23 ± 5	22 ± 2	25 ± 5	29 ± 4	
F20	34 ± 4	20 ± 2*	19 ± 1*	28 ± 5	32 ± 4	37 ± 2	
F40	31 ± 4	11 ± 4*	12 ± 2*	19 ± 5*	26 ± 3	28 ± 7	

注1) 平均値±標準偏差

注2) * 投与前と比較して有意差あり (Dunnnett 法、 $P < 0.05$)

第3章

フェンタニル持続投与が犬と猫のイソフルランの minimum alveolar concentration of blocking adrenergic responses (MAC-BAR) におよぼす影響

全身麻酔は手術を行うときには欠かせないものであり、人では無麻酔や局所麻酔でも実施できる歯石除去のような処置あるいは小手術でも、患者の協力を得ることが難しい獣医療では全身麻酔が必要となることが多い。全身麻酔とは意識消失、侵害刺激遮断（鎮痛）、筋弛緩・不動化、有害反射消失が適切に満たされた状態と定義される（Woodbridge, 1957）。全身麻酔薬には吸入麻酔薬と注射麻酔薬があり、獣医療ではイソフルランやセボフルランなどの吸入麻酔薬が使われることが多い。吸入麻酔薬は意識消失、侵害刺激遮断、筋弛緩・不動化、有害反射消失の全ての作用を持っているが、同時に呼吸抑制作用や血管拡張および心筋抑制による循環抑制作用も持っている。一方、吸入麻酔薬の侵害刺激遮断作用は、意識消失など他の作用に比べて弱く、臨床用量では手術による侵害刺激を十分に遮断することは難しい（Yasuda et al., 1991; Zbinden., 1994）。手術時に十分な侵害刺激遮断作用を得るため、吸入麻酔薬を高用量で投与すると、強い循環抑制が生じて臨床的には容認できない重度の低血圧が生じ、さらに覚醒遅延などの問題が引き起こされることが知られている（Mutoh et al., 1997; Steffy and Howland, 1977）。このため、オピオイドの全身投与、硬膜外麻酔、神経ブロックなどの強力な鎮痛法を併用することで、全身麻酔薬の弱い侵害刺激遮断作用を補い、全身麻酔薬は意識消失を得ることができる程度の用

量を投与することにより、低血圧などの副作用を軽減する麻酔方法が推奨されている (Kissin, 1997)。獣医療においては体格や解剖学的特性などから、硬膜外麻酔や神経ブロックの技術的難易度が高いため、鎮痛法としてオピオイドの投与を全身麻酔薬と併用する麻酔方法が最も一般的である。

疼痛の程度を数値化して客観的に評価する方法は未だ確立されていないが、術後痛や薬剤の鎮痛作用を評価するために、人では患者の自己申告に基づく visual analogue scale (VAS) や numerical rating scale (NRS)、あるいは行動に基づく Children's Hospital Eastern Ontario Pain Scale (CEOPS) などが考案されて実用されている。麻酔下では意識が消失しており、行動の変化や痛みの自己申告を評価することができないため、侵害刺激に対する自律神経の反応などから評価することが有効と考えられる。侵害刺激に対する自律神経の反応を評価するときの指標の1つとして minimum alveolar concentration blocking adrenergic responses (MAC-BAR) が利用されている。MAC-BAR は侵害刺激に対して 50% の患者で自律神経反応を防ぐことのできる吸入麻酔薬の最小肺泡濃度であり、実際には患者の 50% で手術開始の切皮時に、心拍数や血圧の値が切皮前よりも 15~20% 以上上昇しない吸入麻酔薬濃度を MAC-BAR と定義する (Roizen et al., 1981)。薬剤を併用することにより MAC-BAR が低下すれば、併用した薬剤の侵害刺激遮断作用により MAC-BAR が低下したと判断できるため、薬剤の侵害刺激遮断作用を間接的に評価することが可能であると考えられる。人ではイソフルランやセボフルランの MAC-BAR はフェンタニルやレミフェンタニルのオピオイドの併用により、大幅に低下することが報告されている (Albertin et al., 2004; Albertin et al., 2006; Daniel et al., 1998; Katoh et al., 1999; Katoh et al., 2000)。

犬や猫において、手術中に十分な侵害刺激遮断効果を得るために、吸入麻酔

薬にオピオイドを併用するとき、フェンタニルを静脈内に持続投与して用いることが一般的である。しかしながら、犬や猫においてフェンタニルが吸入麻酔薬の MAC-BAR におよぼす影響を検討した報告はない。

本章では、犬と猫においてフェンタニル投与がイソフルランの MAC-BAR に与える影響を評価し、MAC-BAR の低下率から犬と猫におけるフェンタニルの侵害刺激遮断効果の比較を行った。また、より正確な評価を行なうためにフェンタニルの血中濃度を測定し、血中濃度に基づいた MAC-BAR の低下率の比較検討も行った。

材料と方法

本実験は、東京大学大学院農学生命科学研究科動物実験委員会の許可を得て行った。

実験動物

身体検査および血液検査により健康と判断されたビーグル犬 6 頭（年齢（平均±標準偏差）：5.6±0.6 歳，体重（平均±標準偏差）：11.5kg±1.9kg，雌：6 頭）および猫 6 頭（年齢（平均±標準偏差）：3.3±0.3 歳，体重（平均±標準偏差）：4.3±0.6 kg，雌：3 頭，雄：3 頭）を、以下に示す実験群に繰り返し用いた。同一の動物を一つの群で複数回用いることはしなかった。実験当日は実験開始の 12 時間前から絶食としたが、飲水は制限しなかった。同一の動物を繰り返し用いる際は、最低 7 日間の間隔をあけた。

実験群

フェンタニルの投与群は以下の 5 群とした。また実験毎に、フェンタニル投与前に乳酸加リンゲル液のみを投与して MAC-BAR の対照値を測定し、対照群（C 群）とした。フェンタニルの血中濃度を速やかに安定させるため、過去の報告を参考にして、フェンタニルは負荷量をボラス投与した後に持続投与を行った（Sano et al., 2006; Wagner, 1974）。フェンタニルの負荷量+持続投与量で表記した。

対照 (C) 群 : 乳酸加リンゲル液

フェンタニル $5 \mu\text{g/kg/hr}$ (F5) 群 : フェンタニル $5 \mu\text{g/kg} + 5 \mu\text{g/kg/hr}$

フェンタニル $10 \mu\text{g/kg/hr}$ (F10) 群 : フェンタニル $10 \mu\text{g/kg} + 10 \mu\text{g/kg/hr}$

フェンタニル $20 \mu\text{g/kg/hr}$ (F20) 群 : フェンタニル $20 \mu\text{g/kg} + 20 \mu\text{g/kg/hr}$

フェンタニル $40 \mu\text{g/kg/hr}$ (F40) 群 : フェンタニル $40 \mu\text{g/kg} + 40 \mu\text{g/kg/hr}$

フェンタニル $80 \mu\text{g/kg/hr}$ (F80) 群 : フェンタニル $40 \mu\text{g/kg} + 80 \mu\text{g/kg/hr}$

実験方法

麻酔の導入および維持

イソフルラン (エスカイン® ; マイラン製薬株式会社, 大阪) を吸気濃度 5% とし、5L/min の 100%酸素に混ぜてマスクを用いて犬猫に吸入させて麻酔導入を行った。喉頭反射が十分抑制されたことを確認した後、カフ付き気管チューブを気管内に挿入した。100%酸素 1.5L/min とイソフルランを呼気濃度 2.1~2.2%にて麻酔を維持し、麻酔中は人工呼吸器 (KV-1a ; 木村医科器械株式会社, 東京) による間歇的陽圧換気にて調節呼吸を行った。

多機能麻酔モニター (BP-608EV ; コーリンメディカルテクノロジー株式会社, 愛知) を用い、呼気終末イソフルラン濃度 (EtIso : %)、呼気終末二酸化炭素分圧 (PetCO₂ : mmHg)、動脈血酸素飽和度 (SpO₂ : %)、食道温 (ET : °C)、心拍数 (HR : 回/分)、呼吸数 (RR : 回/分)、心電図、収縮期動脈圧 (SAP : mmHg)、平均動脈圧 (MAP : mmHg)、拡張期動脈圧 (DAP : mmHg) を連続的に測定した。24G 留置針 (サーフロー® F&F ; テルモ株式会社, 東京) を大腿動脈あるいは足背動脈に留置し、圧トランスデューサー (BD DTXTM Plus ; 日本ベクトン・ディッキソン株式会社, 福島) を麻酔モニターに接続して観血的に動脈圧を測定した。麻酔器および人工呼吸器を調節して、EtIso が 2.1~2.2%、EtCO₂ が

35～45mmHg、SpO₂が95～100%を維持するように調整した。体温調節には循環式温水マット (TP401 ; Gaymar Industries Inc, Orchard Park, NY, USA) および温風式加温装置 (Bair Hugger Model505 ; Arizant Healthcare Inc, Eden Prairie, MN, USA) を用い、食道温を 37.5～38.5℃に維持した。また、24G 留置針を橈側皮静脈に留置し、乳酸加リンゲル液 (ラクトリンゲル液フソー ; 扶桑薬品工業株式会社, 大阪) を 5mL/kg/hr の速度で投与した。麻酔導入後、動脈圧測定用の留置針から動脈血を採取し、血液分析器 (i-STAT300F ; 扶桑薬品工業株式会社, 大阪) によって PaO₂(mmHg)、PaCO₂(mmHg)、pH を測定し、食道温で補正を行った。

連続的に測定した EtIso、EtCO₂、SpO₂、HR、SAP、MAP、DAP、ET の値は、以下に述べる MAC-BAR 測定における電気刺激前に毎回記録した。血液ガスパラメータは麻酔導入後から実験終了まで 2 時間毎に測定した。

MAC-BAR の測定方法

上で述べた条件下で 30 分以上麻酔を維持して状態を安定させた後、イソフルラン単独麻酔下で以下に示す方法により MAC-BAR の測定を行った。

まず、25G 注射針 2 本を 5cm の間隔をあけて後肢脛骨付近の皮下に刺し、電気刺激装置 (SEN-3301 ; 日本光電株式会社, 東京) およびアイソレーター (SS-104J ; 日本光電株式会社, 東京) と接続し、電気刺激 (50V , 50Hz, 10msec, 最長 1 分間) を与えた。電気刺激は、刺激に対する反応が判定された時点で中止した。

刺激に対して HR あるいは MAP が刺激前の値から 15%以上上昇した場合を反応陽性とし、15%未満の場合は反応陰性とした。反応が陽性の場合には EtIso を刺激前濃度の 10～20%あるいは 0.1%上げ、陰性の場合には刺激前濃度の 10～20%あるいは 0.1%下げた。新たに設定した EtIso で 15～20 分間麻酔維持した

後、再度電気刺激を与えて反応を観察した。刺激に対する反応が陽性から陰性または陰性から陽性に変化するまで上記の試行を繰り返し、反応が変化した試行における EtIso および、その前の試行における EtIso の平均値を MAC-BAR とした。MAC-BAR の測定は 2 回行い、2 回の平均値を MAC-BAR の対照値とした。

フェンタニル投与による MAC-BAR の変化の評価

イソフルランの MAC-BAR の対照値を測定した後、イソフルラン濃度を 2.1 ~2.2% に維持してフェンタニル（フェンタニル；第一三共プロファーマ株式会社、東京）の静脈内投与を行った。フェンタニルの投与にはシリンジポンプ（Graseby3500；Graseby Medical Ltd, Hertfordshire, UK）を用い、まず負荷量の 5、10、20 もしくは 40 μ g/kg を 1 分以上かけて投与し、続けて 5、10、20、40、80 μ g/kg/hr の投与速度で持続投与を行った。フェンタニル持続投与中は、フェンタニルと乳酸加リンゲル液の投与速度が合計で 5 mL/kg/hr となるように乳酸加リンゲル液の投与速度を調節した。フェンタニル投与直前、投与開始 5、10、20、40、60 分後に HR と MAP を記録し、投与開始から 60 分以上経過したのち、再度 MAC-BAR の測定を行った。MAC-BAR の再測定開始直前、再測定開始から 60 分毎および再測定終了時に血漿中フェンタニル濃度測定のために動脈血 1 mL を採取した。採取した動脈血はヘパリン採血管に入れて氷冷保存した後、遠心処理（3000rpm、10 分間）を行い、血漿を分離した。分離した血漿は -80°C で冷凍保存した。

血漿中フェンタニル濃度の測定

血漿中フェンタニル濃度の測定は、高速液体クロマトグラフ質量分析法 (High Performance Liquid Chromatography Mass Spectrometry : HPLC/MS) によって行った。まず、メタノール、蒸留水、酢酸アンモニウム水溶液 (pH4.8, 0.02M) 各 1mL でコンディショニングした固相抽出カートリッジ (エムポアディスクカートリッジ C18SD ; 住友 3M ヘルスケア株式会社, 東京) に、室温で解凍した血漿 400 μ L を添加してフェンタニルを吸着させ、酢酸アンモニウム水溶液 (pH4.8, 0.02M) 3mL で洗浄後、メタノール 1mL でフェンタニルを溶出させた。溶出液をエバポレーター (CVE-2000 ; 東京理化工株式会社, 東京) を用いて陰圧下で蒸発乾固 (40°C、over night) させ、酢酸アンモニウム (pH4.8, 0.02M) とメタノールの 60/40(v/v)混合液 40 μ L に溶解して測定試料とした。

測定装置はポンプ (L-7200 ; 日立ハイテクノロジーズ株式会社, 東京)、UV 検出器 (L-7405 ; 日立ハイテクノロジーズ株式会社, 東京)、インテグレーター (D-7000 ; 日立ハイテクノロジーズ株式会社, 東京)、MS 検出器 (M-8000 ; 日立ハイテクノロジーズ株式会社, 東京) を用い、分析条件は第 1 細孔温度 : 110°C、シールド温度 : 200°C、ドリフト電圧 : 60V、移動相の流速 : 0.2mL/min、測定時間 : 8.5 分、カラム温度 : 21°C とした。イオン化されたフェンタニルの質量数/電荷(m/z)比を 337m/z として検出を行った。測定試料の分離には逆相系カラム (Hydrosphere C18 ; 株式会社ワイエムシィ, 京都) を用い、移動相には酢酸アンモニウム (pH4.8, 0.02M) とメタノールの 60/40(v/v)混合液を用い、測定試料 5 μ L を HPLC 装置に注入した。覚醒下の犬猫から得た無添加の血漿にフェンタニル標準品を加え、フェンタニル濃度が 0.5、1.0、5.0、10、50、100ng/mL となるように調整した試料を用いて検量線を作成した。作成した検量線を基にして測定試料の血漿中フェンタニル濃度を測定した。

統計解析

犬と猫の群内比較 (C 群と F 群の比較)

MAC-BAR 対照値、MAC-BAR 対照値における HR、MAP を、フェンタニル投与速度と動物を 2 要因とした、繰り返しのない 2 元配置分散分析で比較した。MAC-BAR における HR、MAP は、MAC-BAR 算出に用いたイソフルラン濃度における HR、MAP の平均値とした。対照値に F 群間で有意差がなかった場合、対照値の平均を F 群に対する C 群として用いた。C 群の MAC-BAR と F 群の MAC-BAR、さらに各々における HR、MAP を Tukey-Kramer 法で解析した。

犬と猫の群間比較 (同一用量の F 群の比較)

犬と猫において、同一用量の F 群における MAC-BAR および MAC-BAR 減少率を対応のない t 検定を用いて解析した。

統計解析は統計解析ソフトウェア (StatView-5.0 ; SAS Institute Inc, Cary, NC, USA) を用いて行い、統計学的有意水準は $P < 0.05$ とした。MAC-BAR、MAC-BAR 減少率、血漿中フェンタニル濃度、HR、MAP の値は平均値 ± 標準偏差で表記した。

結果

犬の MAC - BAR

犬において、F 群ごとの MAC-BAR 対照値に有意差はなかった ($P=0.764$) が、個体差は有意であった ($P<0.001$)。C 群および F5、F10、F20、F40 および F80 群の MAC - BAR は 2.46 ± 0.20 、 1.45 ± 0.14 、 1.15 ± 0.08 、 0.93 ± 0.13 、 $0.77\pm 0.11\%$ および $0.66\pm 0.08\%$ であり、C 群と比較して各々 40.9 ± 6.0 、 52.5 ± 5.5 、 61.7 ± 5.7 、 68.9 ± 5.0 および $75.3\pm 2.5\%$ 減少した (表 1)。MAC-BAR はフェンタニル投与速度依存性に低下し、全ての F 群で C 群との間に有意差があった ($P<0.05$)。また、F10 と F20 群、F20 と F40 群、F40 と F80 群では群間に有意差がなかった (表 1)。

F5、F10、F20、F40 および F80 群における血漿中フェンタニル濃度は、 1.7 ± 0.1 、 3.3 ± 0.5 、 7.1 ± 1.4 、 17.8 ± 2.9 および $47.2\pm 9.9\text{ng/mL}$ であった (表 1)。個体ごとの血漿中フェンタニル濃度と MAC-BAR の関係を検討したところ、MAC-BAR はフェンタニルの血中濃度依存性に低下しており、フェンタニルの血漿中濃度が約 5ng/mL までは大きく低下したが、血漿中濃度が約 10ng/mL 以上では緩やかに低下する傾向を示した (図 1)。また、MAC-BAR の再測定中、血漿中フェンタニル濃度の変動は安定していた (図 2)。

MAC-BAR 対照値における HR は F 群間に有意差はなかったが ($P=0.876$)、個体間に有意差があった ($P<0.01$)。F5 群の MAC-BAR における HR は C 群を上回ったが、残りの群では C 群を下回った (表 2)。MAC-BAR 対照値における MAP は群間に有意差はなかったが ($P=0.246$)、個体間に有意差があった ($P<0.01$)。F5、F10、F20、F40、F80 群での MAC-BAR における MAP は C 群を上回った表 (表 2)。

猫の MAC - BAR

猫において、F 群ごとの MAC-BAR の対照値に有意差はなかった ($P=0.821$) が、個体差は有意であった ($P<0.001$)。C 群および F5、F10、F20、F40 および F80 群の MAC - BAR は 2.72 ± 0.18 、 2.28 ± 0.15 、 2.05 ± 0.18 、 1.89 ± 0.13 、 1.71 ± 0.13 、 $1.61\pm 0.03\%$ であり、C 群と比較して各々 17.9 ± 5.1 、 22.5 ± 10.8 、 32.8 ± 8.0 、 34.9 ± 4.6 、 $38.4\pm 2.2\%$ 減少した (表 3)。MAC-BAR はフェンタニル投与速度依存性に低下し、全ての F 群で C 群との間に有意差があった ($P<0.05$)。また F5 と F10 群、F10 と F20 群、F20 と F40 群、F40 と F80 群間には有意差がなかった (表 3)。

F5、F10、F20、F40 および F80 群における血中フェンタニル濃度は、 2.9 ± 0.4 、 6.2 ± 1.0 、 11.9 ± 3.1 および 22.1 ± 4.1 、 $43.6\pm 10.2\text{ng/mL}$ であった (表 3)。個体ごとの血漿中フェンタニル濃度と MAC-BAR の関係を検討したところ、MAC-BAR はフェンタニルの血中濃度依存性に低下しており、フェンタニルの血漿中濃度が約 5ng/mL までは大きく低下したが、血漿中濃度が約 10ng/mL 以上では緩やかに低下する傾向を示した (図 1)。また、MAC-BAR の再測定中、血漿中フェンタニル濃度の変動は安定していた (図 3)。

MAC-BAR 対照値における HR は F 群間に有意差はなかったが ($P=0.646$)、個体間に有意差があった ($P<0.01$)。F5、F10 群での MAC-BAR における HR は C 群を下回ったが、F20、F40、F80 群での MAC-BAR における HR は C 群を上回った (表 4)。MAC-BAR 対照値における MAP は群間に有意差はなかったが ($P=0.378$)、個体間に有意差があった ($P<0.01$)。F5、F10、F20、F40、F80 群での MAC-BAR における MAP は C 群を上回った (表 4)。

犬と猫の MAC - BAR および MAC - BAR 減少率の比較

猫の MAC-BAR 対照値は、犬の MAC-BAR 対照値よりも高かった ($P < 0.0001$)。同一用量の F 群において、全群で猫の MAC-BAR は犬の MAC-BAR よりも有意に高かった ($P < 0.0001$, 図 4)。また、同一用量の F 群における MAC-BAR 減少率は、全群で猫は犬よりも有意に小さかった ($P < 0.0001$, 図 5)。

考察

本検討では、MAC-BAR を用いてフェンタニルの侵害刺激遮断効果を間接的に評価した。従来、オピオイドなどの鎮痛薬と吸入麻酔薬を併用したときの吸入麻酔薬の必要濃度低下効果は、吸入麻酔薬の minimum alveolar concentration (MAC) を用いて評価されることが多かった (McEwan et al., 1993; Uyama et al., 2009)。MAC は侵害刺激に対して 50% の患者で体動を防ぐことのできる吸入麻酔薬の最小肺泡濃度であり、人では 50% の患者で手術開始の切皮時に、体動を抑制できる吸入麻酔薬濃度を MAC とすることが多い (McEwan et al., 1993)。しかし、MAC で評価している刺激に対する不動化は、運動神経の抑制によるところが大きいことが示され、必ずしも脊髄および脳における侵害刺激遮断効果を反映するものではないことが明らかとなっている (Antognini and Schwartz, 1993; Rampil and King, 1996; Rampil and Laster, 1992; Rampil and Mason, 1993)。一方、MAC-BAR は侵害刺激により引き起こされる心拍数や血圧の上昇を評価しているため、侵害刺激の程度あるいは侵害の遮断効果をより適切に評価できると考えられる。

今回、フェンタニルがイソフルランの MAC-BAR に与える影響を検討するときに、フェンタニルの投与速度だけでなく血中濃度による評価も行なった。薬剤の相互作用を調べる時、両方の薬剤が効果部位において安定した濃度を維持していることが重要である。負荷量投与後に持続投与を開始することで、個体ごとに安定した血漿中フェンタニル濃度を維持することができたが、同一用量を投与しても血中濃度には個体差が生じると予想され、実際に血中濃度には個体差が認められた。よりの確に薬剤の作用を検討するために、投与量だけでなく実際の血中濃度による評価を行なった。

イソフルラン単独の MAC-BAR は犬で 2.4% であり、猫では 2.7% であった。

人ではイソフルランの MAC-BAR は MAC の 1.85 倍と報告されている (Daniel et al., 1998)。犬および猫のイソフルランの MAC はそれぞれ、約 1.3% および約 1.5% とされており、人と同様に MAC-BAR の値はいずれも MAC の値より高くなった (March and Muir., 2003; Valverde et al., 2003)。今回の結果から人と同様に、犬と猫においてもイソフルラン単独で侵害刺激に対する心拍数や血圧の反応を十分に抑制するためには、高用量のイソフルランが必要となることが明らかとなった。一方、イソフルランは用量依存性に循環抑制作用を強め、高用量では重度の低血圧が生じることが報告されている (Mutoh et al., 1997; Steffy and Howland, 1977)。MAC-BAR 対照値における平均動脈圧は、犬猫ともに 60mmHg を下回り、脳血流の自動調節能を下回るために臨床上好ましくないとされる低血圧を生じた。また、イソフルランを高用量で投与して心拍数や血圧が安定していても、侵害刺激に対する神経内分泌反応が抑制できなかったとする報告もある (Segawa et al., 1998)。以上のことから、犬と猫においてイソフルラン単独で十分な侵害刺激遮断効果を得ることは難しく、高用量のイソフルランによる循環抑制なども考慮すると、イソフルラン麻酔下における手術で侵害刺激を十分に抑制するためには、フェンタニルなどのオピオイドを併用することが望ましいことが示唆された。

犬と猫のイソフルランの MAC-BAR は、フェンタニルの用量および血中濃度依存性に低下した。フェンタニルを投与することでイソフルランの MAC-BAR が低下する要因には、末梢及び中枢神経系に存在するオピオイド受容体を介したフェンタニルの侵害刺激遮断作用が大きく関与していると考えられる。フェンタニルは末梢および中枢神経系において、①脊髄における後角ニューロンに対する直接の後シナプス抑制、②末梢神経終末における神経伝達物質の遊離抑制、③中脳や延髄領域におけるセロトニンやノルアドレナリン神経系の下行性

抑制系の賦活化、④視床や視床下部における脊髄からの侵害刺激伝達遮断を通じて、末梢から中枢に伝達される侵害刺激の伝達を阻害すると考えられている (Stein et al., 2009)。フェンタニルは、オピオイド受容体を介する一連の侵害刺激の伝達阻害により、MAC-BAR の低下をもたらすと考えられる。

犬猫とも、フェンタニルの血中濃度が 5~6ng/mL 程度まではイソフルランの MAC-BAR は急激に低下し、10ng/mL 以上では低下が緩やかとなった。Daniel や Katoh らはフェンタニルの投与量を増やしてもイソフルラン、あるいはセボフルランの MAC-BAR 低下効果が増強しない天井効果が認められたことを報告している (Daniel et al., 1998; Katoh et al., 1999)。今回、犬と猫ともに F40 群と F80 群で MAC-BAR に有意差が認められず、回帰曲線を当てはめた結果からフェンタニルの血中濃度が高まるにつれて MAC-BAR 低下効果は頭打ちとなる傾向が認められ、フェンタニルによるイソフルランの MAC-BAR 低下効果には、人と同様に天井効果があることも明らかとなった。

このことからオピオイドを大量に用いても、単独で全身麻酔薬として使用できるわけではないことが示された。人では、フェンタニルと吸入麻酔薬を併用したときに、吸入麻酔薬の濃度を下げすぎると手術刺激に対して心拍数や血圧の上昇を伴わない体動が生じ、循環動態の変化と体動が必ずしも一致しないことも報告されている (Katoh et al., 1999; Sebel et al., 1997)。これは、吸入麻酔薬の濃度を低下させることで吸入麻酔薬の運動神経抑制が弱まった結果生じるためであり、フェンタニルには脊髄における運動神経抑制作用がないためと考えられている。この点からも、全身麻酔状態を得るためには、オピオイドに全身麻酔薬を併用する必要があることが示唆される。ただし、本実験では、心拍数や血圧の変動を伴わない体動は生じなかった。これは、犬や猫では人ほど MAC-BAR が低下しなかったため、体動が出るほどの濃度まで低下しなかった

ことによると考えられる。一方で、犬と猫では心拍数や血圧の上昇を指標として麻酔管理を行うことで、同時に体動も抑制できることが示唆され、より適切な麻酔管理を行うことが可能であると考えられる。

今回の検討では、フェンタニルによる MAC-BAR の減少率に犬と猫で大きな違いが認められた。犬では最大 75%まで低下したのに対し、猫では最大でも 38%までの低下に留まり、猫では犬と比べてフェンタニルの侵害刺激遮断効果が弱いことが示唆された。人では Daniel らがフェンタニル 1.5 および 3 μ g/kg の投与により、イソフルランの MAC-BAR が 58 および 69%低下したことを報告し、Katoh らは血中フェンタニル濃度が 0.78、1、3、6ng/ml のときにセボフルランの MAC-BAR が 50、57、83、92%まで低下したことを報告している (Daniel et al., 1998; Katoh et al., 1999)。人では犬や猫よりも低い用量、血中濃度で高い効果が得られているが、犬では用量あるいは血中濃度を増加させることで同程度の効果が得られることから、人と犬では量的な違いが関与する一方で、猫では用量あるいは血中濃度を増加させても同程度の効果が得られないことから、人と猫では作用の質的な違いが大きく関与している可能性が考えられた。

動物種によってオピオイドの作用が異なる原因として、オピオイドの薬物動態、オピオイド受容体の分布や発現量、あるいはオピオイド受容体の機能に違いがあることが考えられる。今回、同一投与量における血漿中フェンタニル濃度は、犬と比べて猫の方が高くなる傾向がみられたため、犬と猫にはオピオイドの薬物動態に違いがあることが示唆された。吸入麻酔薬にオピオイドを併用する主な目的は、吸入麻酔薬の侵害刺激遮断作用を補い、十分な侵害刺激遮断効果を得ることである。このときオピオイドの効果が十分であると、吸入麻酔薬に侵害刺激遮断効果を期待する必要がなくなるため、吸入麻酔薬の必要量が

減少し、高用量の吸入麻酔薬による循環抑制を緩和することも可能になると考えられる。今回、イソフルラン単独の MAC-BAR における平均動脈圧は、犬猫ともに 60mmHg を下回り、脳血流量の自動調節能を下回るため臨床上好ましくないとされる程度の低血圧を生じた。フェンタニル投与時の MAC-BAR における平均動脈圧はイソフルラン単独の MAC-BAR における平均動脈圧を上回り、十分な侵害刺激遮断効果を得たうえで、循環動態を改善することが可能であることが明らかとなった。フェンタニルを併用すると MAC-BAR が減少して循環動態が改善することが示されたが、何れのフェンタニル用量においても、MAC-BAR の減少率が大きく、イソフルランによる循環抑制が小さいと考えられた犬のほうが、MAC-BAR における心拍数と血圧とは猫よりも低い値となった。イソフルラン濃度が低下するに伴い循環抑制は軽減されるため、犬における心拍数の低下はフェンタニルによる迷走神経刺激によるものである可能性が考えられ、心拍数減少が血圧に影響した可能性が考えられた。一方、猫では犬よりも迷走神経刺激が弱いため、イソフルラン濃度が低下すると循環抑制が軽減され、心拍数が上昇して血圧も上昇した可能性が考えられた。第 2 章では、犬と猫でフェンタニルの投与後にみられた心拍数の減少は、猫の方が犬よりも軽度であったことから、犬ではフェンタニルによる迷走神経刺激作用が猫よりも強いことが示唆された。

フェンタニルの持続投与により犬と猫のイソフルランの MAC-BAR は低下した。MAC-BAR の低下はフェンタニルの血漿中濃度依存性ではあったが、低下率には大きな違いがあり、猫では犬と比べてフェンタニルの侵害刺激遮断効果が弱いことが示唆された。また、猫ではフェンタニルの血中濃度を上昇させても犬と同程度の、MAC-BAR 低下効果すなわち侵害刺激遮断作用を得ることは困難であることが示唆された。

表1 犬におけるフェンタニル投与群のMAC-BAR、MAC-BAR減少率、血漿中フェンタニル濃度

	フェンタニル投与群 ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$)					
	対照	5	10	20	40	80
MAC-BAR(%)	2.46 \pm 0.20	1.45 \pm 0.14 ^a	1.15 \pm 0.08 ^{a,b}	0.93 \pm 0.13 ^{a,b}	0.77 \pm 0.11 ^{a,b,c}	0.66 \pm 0.08 ^{a,b,c,d}
減少率(%)		40.9 \pm 6.0	52.5 \pm 5.5 ⁱ	61.7 \pm 5.7 ^{i,ii}	68.9 \pm 5.0 ^{i,ii}	75.3 \pm 2.5 ^{i,ii,iii}
血漿中フェンタニル濃度(ng/mL)		1.7 \pm 0.1	3.3 \pm 0.5	7.1 \pm 1.4	17.8 \pm 2.9	47.2 \pm 9.9

注1) 平均値 \pm 標準偏差

注2) ^{a,b,c,d} それぞれ対照、F5、F10、F20と比較して有意差あり (Tukey-Kramer法、 $P < 0.05$)

注3) ^{i,ii,iii} それぞれF5、F10、F20と比較して有意差あり (Tukey-Kramer法、 $P < 0.05$)

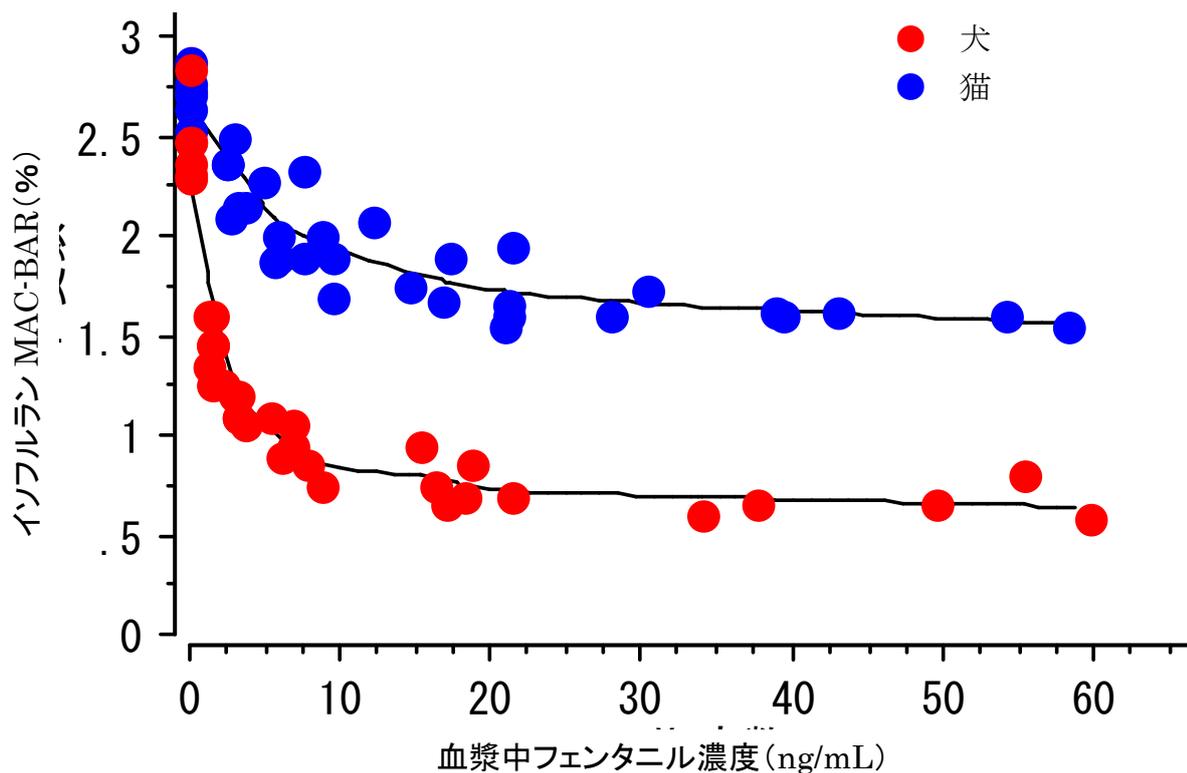


図 1 血漿中フェンタニル濃度とイソフルラン MAC-BAR の関係

注 1) 血漿中フェンタニル濃度および MAC-BAR は、各フェンタニル投与速度における個体ごとの平均値

注 2) 曲線は回帰曲線

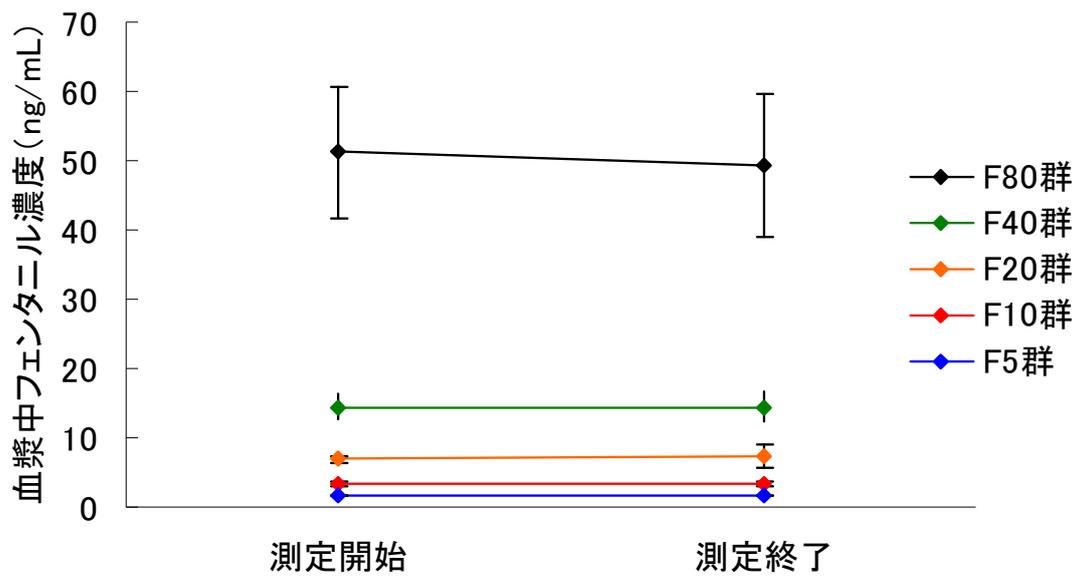


図 2 犬における MAC-BAR 再測定中の血漿中フェンタニル濃度の変化

注) 平均値±標準偏差

表 2 犬の MAC·BAR における心拍数、平均動脈圧

	対照値	フェンタニル投与群 ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$)				
		5	10	20	40	80
心拍数 (回/分)	101 \pm 11	105 \pm 27	92 \pm 29	86 \pm 34	61 \pm 11 ^a	59 \pm 11 ^a
平均動脈圧 (mmHg)	57 \pm 6	62 \pm 4	63 \pm 3	69 \pm 5	75 \pm 15 ⁱ	66 \pm 7

注1) 平均値 \pm 標準偏差

注2) a 対照と比較して有意差あり (Tukey-Kramer 法、 $P < 0.05$)

注3) i 対照と比較して有意差あり (Tukey-Kramer 法、 $P < 0.05$)

表3 猫におけるフェンタニル投与群のMAC-BAR、MAC-BAR減少率、血漿中フェンタニル濃度

	フェンタニル投与群 ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$)					
	対照	5	10	20	40	80
MAC-BAR(%)	2.72 \pm 0.18	2.28 \pm 0.15	2.05 \pm 0.18 ^a	1.89 \pm 0.13 ^{ab}	1.71 \pm 0.13 ^{abc}	1.61 \pm 0.03 ^{abc,d}
減少率(%)		17.9 \pm 5.1	22.5 \pm 10.8	32.8 \pm 8.0 ⁱ	34.9 \pm 4.6 ⁱ	38.4 \pm 2.2 ^{i,ii}
血漿中フェンタニル濃度(ng/mL)		2.9 \pm 0.4	6.2 \pm 1.0	11.9 \pm 3.1	22.1 \pm 4.1	43.6 \pm 10.2

注1) 平均値 \pm 標準偏差

注2) ^{a,b,c,d} それぞれ対照、F5、F10、F20と比較して有意差あり (Tukey-Kramer法、 $P < 0.05$)

注3) ^{i,ii,iii} それぞれF5、F10、F20と比較して有意差あり (Tukey-Kramer法、 $P < 0.05$)

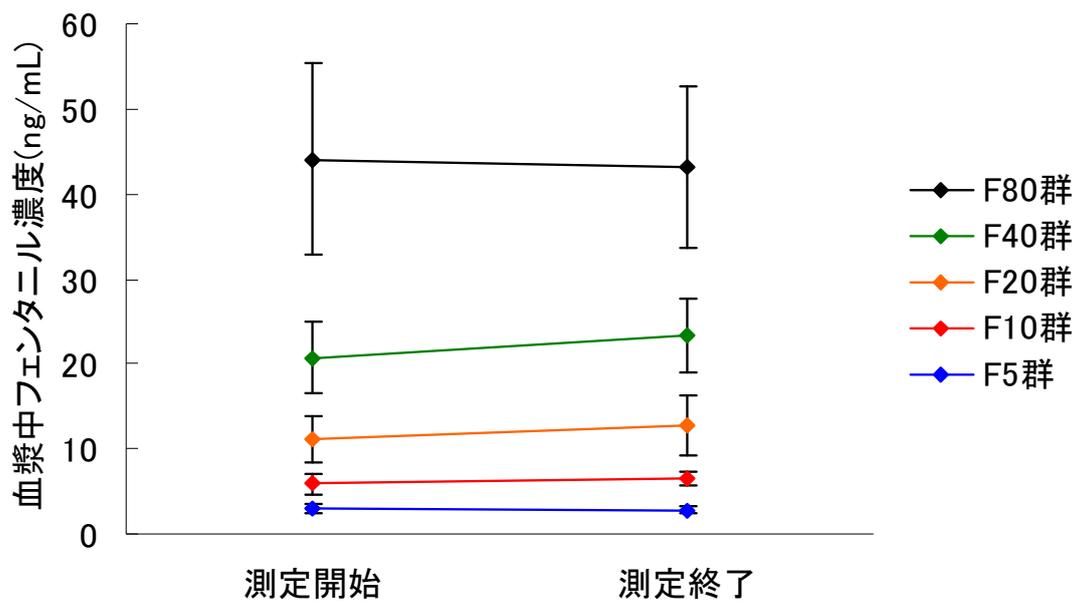


図3 猫における MAC-BAR 再測定中の血漿中フェンタニル濃度の変化

注) 平均値±標準偏差

表4 猫のMAC-BARにおける心拍数、平均動脈圧

		フェンタニル投与群 ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$)				
対照値		5	10	20	40	80
心拍数 (回/分)	140 \pm 19	133 \pm 24	123 \pm 33	156 \pm 23	180 \pm 28 ^a	182 \pm 36 ^{a,b}
平均動脈圧 (mmHg)	54 \pm 8	58 \pm 9	58 \pm 9	66 \pm 15	85 \pm 17 ⁱ	82 \pm 19 ⁱ

注1) 平均値 \pm 標準偏差

注2) ^{a,b} それぞれF5、F10と比較して有意差あり (Tukey-Kramer法、 $P < 0.05$)

注3) ⁱ 対照と比較して有意差あり (Tukey-Kramer法、 $P < 0.05$)

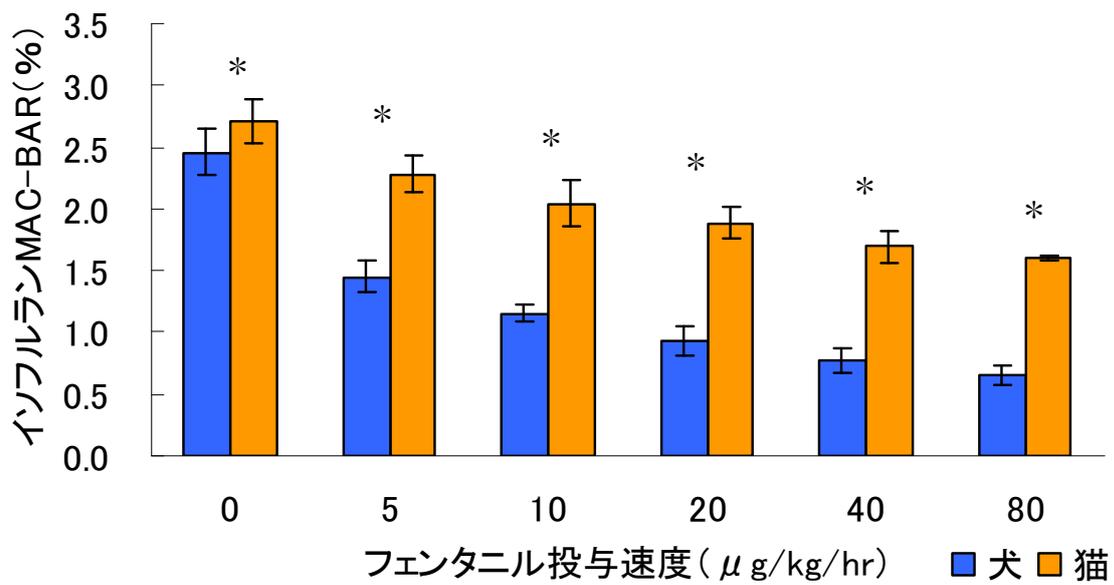


図4 フェンタニル投与速度とイソフルラン MAC-BAR の関係

注1) 平均値±標準偏差

注2) 投与速度0群は、乳酸加リンゲル液のみ投与した群

注3) * 犬猫の同一投与速度群間で有意差あり (対応のないt検定、 $P < 0.0001$)

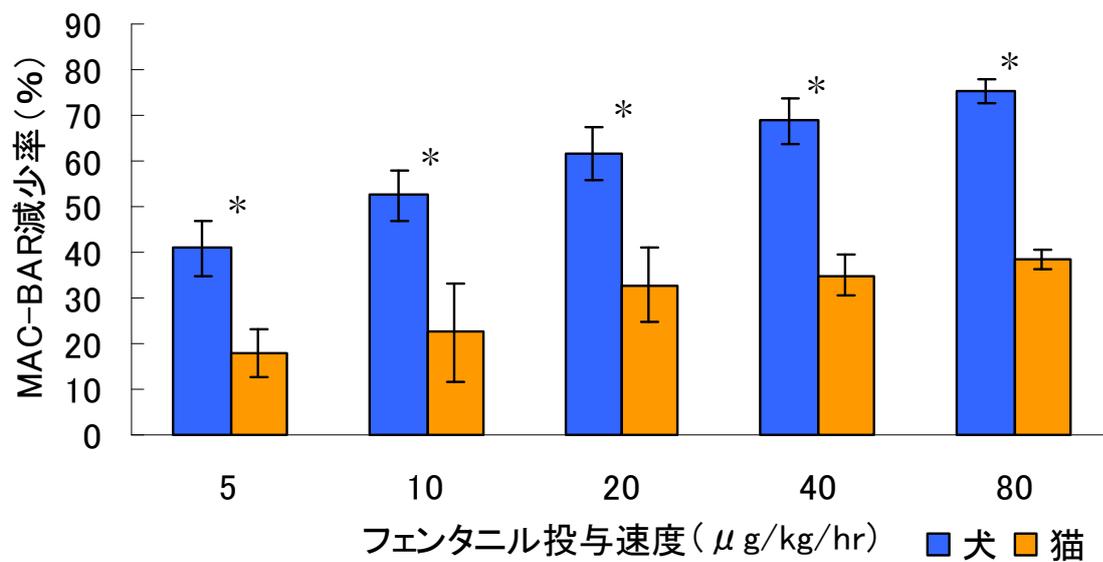


図5 フェンタニル投与速度とイソフルラン MAC-BAR 減少率の関係

注1) 平均値±標準偏差

注2) *犬猫の同一投与速度群間で有意差あり (対応のない t 検定、 $P < 0.0001$)

第4章

犬と猫の手術症例におけるフェンタニルの侵害刺激遮断効果の検討

手術による侵害刺激は、末梢神経から脊髄および視床を介して大脳だけでなく視床下部にも伝達され、神経内分泌系を刺激して様々なストレス反応を引き起こす。すなわち交感神経の興奮により心拍数や血圧が上昇し、内分泌系への刺激により下垂体、副腎髄質、副腎皮質、甲状腺、膵臓などの内分泌器官から成長ホルモン、バソプレシン、エピネフリン、ノルエピネフリン、コルチゾール、甲状腺ホルモン、インスリン、グルカゴンなど様々なホルモン分泌が促進される (Clarke, 1970; Halter and Pflug, 1980; Philbin and Coggins, 1978; Reier et al., 1973; Roizen et al., 1981)。

これらの神経内分泌系の反応は、手術刺激から生体を防御し、生体の恒常性を維持するための合目的反応であるが、過剰な反応は生体に不利に働くことも知られている。Feringa らは、麻酔および手術中の頻脈は、心筋に対する酸素供給量の低下と心筋における酸素消費量の増加を引き起こし、術後の心筋虚血の悪化につながる可能性があることを報告し、Stone らは、手術中の高血圧は術後の心筋虚血の発生率を上昇させることを報告している (Feringa et al., 2006; Stone et al., 1988)。また、Anand らは新生児の心臓手術において、同様の麻酔および鎮痛法を行っていても、術中および術後の神経内分泌反応が過剰であると予後が不良であることを報告し、Yeager らは成人の開胸、開腹、血管系の手術においてコルチゾールの尿中排泄量が多いと、術後に心不全や感染などの合併症の発生率が高まることを報告した (Anand et al., 1990; Yeager et al., 1987)。

これらのことから、手術操作により加わる侵害刺激が引き起こす神経内分泌反応を適切に抑制することは、生体保護の観点から極めて重要であり、術後合併症あるいは周術期死亡率の低下にも重要な役割を果たすと考えられる。

手術中の侵害刺激により引き起こされる神経内分泌反応のうち、最も即時的なものは、交感神経刺激による心拍数や血圧の上昇である。この反応は、侵害刺激を鋭敏に反映するものと考えられ、その程度を評価する上で簡便ながら有用な方法である (Roizen, 1981)。第 3 章では、心拍数や血圧の反応を利用した MAC-BAR を用いて、フェンタニルの侵害刺激遮断効果を犬と猫で評価した。第 3 章では健康な犬や猫を用いて安定した条件下で、一定の刺激を加えたときの心拍数あるいは血圧の反応を評価したため、適切な判断が可能であったと考えられる。しかしながら、加わる刺激や背景因子が様々である臨床例の手術時における侵害刺激遮断の程度を、心拍数や血圧の変動のみで客観的に評価することは難しいと考えられる。

一方、侵害刺激に対する神経内分泌反応のうち、下垂体-副腎皮質-コルチゾール系あるいは血糖値などの内分泌反応は、心拍数や血圧のような秒あるいは数分単位での反応ではないものの、時間単位での反応であるため内分泌系に異常が無い動物では、一定時間中の侵害刺激強度を十分に反映すると考えられる。反応時間を考慮すると、血中コルチゾール濃度の変動は即時的な評価は困難ではあるが、手術時の侵害刺激に対する神経内分泌反応の指標として人、犬、猫で広く使用されている (Anand et al., 1990; Benson et al., 2000; Smith et al., 1999)。また、血糖値は手術刺激によるカテコラミン、コルチゾール、グルカゴンなどの分泌増加、あるいは肝でのグリコーゲン分解などにより上昇するため、侵害刺激に対する神経内分泌反応の指標の 1 つとして利用されることが多い (Clarke, 1970; Gruber et al., 2001)。

第3章の健常な犬猫を用いた検討では、フェンタニルの侵害刺激遮断作用が、犬と猫では大きく異なる可能性が示された。そこで、本章では様々な手術を受ける犬と猫の臨床例を対象として、イソフルランとフェンタニル持続投与の併用による麻酔が侵害刺激をどの程度遮断しているのかを、神経内分泌反応すなわち心拍数、血圧、血中コルチゾール濃度、血糖値の変動を指標として評価することで、犬と猫におけるフェンタニルの侵害刺激遮断作用を比較した。

材料と方法

対象症例

2010年5月から11月に、東京大学大学院農学生命科学研究科附属動物医療センターにおいて、イソフルランとフェンタニルを併用した麻酔下で major surgery を行った犬と猫の症例のうち、麻酔前にステロイド、鎮痛薬、鎮静薬を投与されておらず、視床下部-下垂体-副腎系および糖代謝系に明らかな異常がなく、麻酔導入から手術開始までが60分以内であり、手術時間が60分以上であった犬14頭と猫14頭を対象とした。

麻酔方法

麻酔および周術期管理は、基本的に当センターで通常行われている方法に準じた。まず、薬剤投与のために橈側皮静脈あるいは伏在静脈に22あるいは24Gの留置針（サーフロー[®]F&F；テルモ株式会社，東京）を留置し、アトロピン（アトロピン硫酸塩注射液；田辺三菱製薬株式会社，大阪）25～50 μ g/kg を皮下投与あるいは5～10 μ g/kg を静脈内投与した。アトロピン投与5～10分後にプロポフォール（1%プロポフォール注「マルイシ」；丸石製薬株式会社，大阪）を意識が消失するまで静脈内投与した。猫では、ほぼ意識が消失して開口操作が容易となった時点で、リドカイン（キシロカインポンプスプレー8%；アストラゼネカ株式会社，大阪）を喉頭に適量噴霧した。意識消失が確認された後、フェンタニル5～10 μ g/kg のボーラス投与を行い、喉頭反射が十分に抑制された時点でカフ付き気管チューブを気管内に挿管した。気管挿管後、直ちにイソフ

ルランとフェンタニルの持続投与による麻酔維持を開始した。フェンタニルの持続投与はシリンジポンプ（Graseby3500；Graseby Medical Ltd, Hertfordshire, UK）を用いて行い、麻酔および手術中は、糖加酢酸リンゲル液（フィジオ 140；株式会社大塚製薬工場，徳島）を 10mL/kg/hr の速度で投与した。麻酔導入後、採血のために頸静脈に 22G あるいは 24G の留置針を留置した。麻酔導入直後はイソフルランの呼気終末濃度を 1.5%、フェンタニルの持続投与速度を $20 \mu\text{g/kg/hr}$ に設定し、術中は以下の操作により適切と判断される状態に麻酔を維持した。基本的には、手術刺激に対して心拍数や血圧が上昇しなければ、呼気終末イソフルラン濃度を適宜 0.1~0.2% 低下させ、手術刺激により心拍数や血圧が手術開始時の値より 15% 以上上昇した場合あるいは体動が生じた場合は、フェンタニル $5\sim 10 \mu\text{g/kg}$ の静脈内投与を行うか、呼気終末イソフルラン濃度を 0.1~0.2% 上昇させた。イソフルランの過量投与による重度の低血圧を避けるため、イソフルラン濃度は、第 3 章で測定したフェンタニル $20 \mu\text{g/kg/hr}$ 投与時のイソフルラン MAC-BAR を上限とした。

気管挿管後は手動あるいは人工呼吸器（KV-1a；木村医科器械株式会社，東京）による陽圧換気を行い、多機能麻酔モニター（BP-608EV；コーリンメディカルテクノロジー株式会社，愛知）を用い、呼気終末イソフルラン濃度（EtIso：%）、呼気終末二酸化炭素分圧（EtCO₂：mmHg）、動脈血酸素飽和度（SpO₂：%）、食道温（ET：℃）、心拍数（HR：回/分）、呼吸数（RR：回/分）、心電図、収縮期動脈圧（SAP：mmHg）、平均動脈圧（MAP：mmHg）、拡張期動脈圧（DAP：mmHg）を測定した。人工呼吸器による陽圧換気は、EtCO₂ が 30~40mmHg となるように 1 回換気量、および呼吸回数を調節した。動脈圧はオシロメトリック法を用いて非観血的な測定を 5 分毎に行い、平均動脈圧が 60mmHg を下回った場合には、コロイド輸液剤（サリンヘス[®]；フレゼニウスカービジャパン株式会社，

東京)、エフェドリン (エフェドリン「ナガキ」注射液 40mg ; 日医工株式会社, 富山)、ドブタミン (ドブタミン点滴静注液 100mg ; 富士製薬工業株式会社, 富山)、ドパミン (イノバン 50mg ; 協和発酵キリン株式会社, 東京) を用いて昇圧処置を行った。また、循環式温水マット (TP401 ; Gaymar Industries Inc, Orchard Park, NY, USA) および温風式加温装置 (Bair Hugger Model505 ; Arizant Healthcare Inc, Eden Prairie, MN, USA) を用い、体温を可能な限り正常範囲に保持した。

神経内分泌反応の評価

手術開始直前、手術開始 30、60 分後の HR、MAP、EtIso の値を記録した。また、対象症例から麻酔導入前、手術開始直前、手術開始 60 分後に静脈血 1.5 ~2mL を採取し、0.5~1mL を血清分離剤の入ったチューブに移し、残りの 1mL をヘパリンチューブに移した。採取した血液を遠心処理 (3000rpm, 10 分) して血清および血漿を分離し、血清は血中コルチゾール濃度の測定に用い、血漿は血糖値および血漿中フェンタニル濃度の測定に用いた。血中コルチゾール濃度は CLEIA 法により測定した。血糖値は生化学自動分析装置 (富士ドライケム 7000Z ; 富士フィルム株式会社, 東京) を用いて測定した。血漿中フェンタニル濃度の測定は、第 3 章と同様に行った。血中コルチゾール濃度、血糖値の測定は即日に行い、血漿中フェンタニル濃度の測定は後日に行い、フェンタニル濃度測定用の血漿は測定まで -80 度で冷凍保存した。

統計解析

犬と猫における症例の性別（雄、去勢雄、雌、避妊雌）、年齢（5歳未満、5歳以上10歳未満、10歳以上）、手術内容（開腹、整形、その他）の偏りを χ^2 独立性検定で解析した。犬、猫それぞれにおいて手術開始直前、手術開始30分後、手術開始60分後のHR、MAP、EtIsoについてFriedman検定を行い、有意差が認められた場合、Scheffe法で解析した。犬と猫における手術開始直前、手術開始30分後、手術開始60分後のEtIsoについてMann-Whitney U検定で解析した。犬、猫それぞれにおいて手術開始直前、手術開始60分後の血漿中フェンタニル濃度をWilcoxon符号順位和測定で解析した。犬と猫における手術開始直前、手術開始60分後の血漿中フェンタニル濃度をMann-Whitney U検定で比較した。犬と猫それぞれにおいて麻酔導入前、手術開始直前、手術開始60分後の血中コルチゾール濃度、血糖値について手術開始直前を対照としてDunnet法により解析を行った。

統計解析は統計解析ソフトウェア（StatView-5.0；SAS Institute Inc, Cary, NC, USA）を用いて行い、統計学的有意水準は $P < 0.05$ とした。HR、MAP、EtIso、血漿中フェンタニル濃度、血中コルチゾール濃度、血糖値を中央値（四分位範囲）で表記した。

結果

手術症例の体重および年齢の平均値±標準偏差（範囲）は、犬では 16.6 ± 15.4 （4.7～63）kg および 7.4 ± 3.4 （2.1～13.5）歳、猫では 4.5 ± 1.3 （2.8～7.8）kg および 6.9 ± 4.5 （1.1～13.2）歳であった。犬と猫の性別、年齢、手術内容に偏りは認められなかった（表 1）。

手術開始時、手術開始 30 および 60 分後における EtIso の中央値（四分位範囲）は、犬では 1.15（0.1）%、1.15（0.25）%、1.1（0.25）% であり、猫では 1.35（0.45）%、1.2（0.5）%、1.2（0.275）% であった（図 1）。犬猫ともに経時的な変動は有意ではなかった（ $P=0.8515$ 、 $P=0.5004$ ）。一方、犬と猫の比較では、手術開始 60 分後の EtIso に有意差が認められた（ $P=0.0346$ ）。

手術開始時、手術開始 30 および 60 分後における HR の中央値（四分位範囲）は、犬では 91.5（21.25）回/分、83.5（13.25）回/分、78（11.5）回/分であり、猫では 128.5（34.75）回/分、185（41）回/分、185（48）回/分であった（図 2）。経時的な変動は犬では有意ではなかったが（ $P=0.2354$ ）、猫では有意であった（ $P=0.011$ ）。手術開始 30 および 60 分後における HR は、手術開始時と比較して、猫では有意に上昇していた（ $P=0.0024$ 、 $P=0.0006$ ）。一方、犬猫ともに手術開始の切皮中に HR が手術開始直前の値よりも 15%以上上昇した症例は認められなかった。

手術開始時、手術開始 30 および 60 分後における MAP の中央値（四分位範囲）は、犬では 69.5（6.5）mmHg、72（34.75）mmHg、74（26.5）mmHg であり、猫では 66（20.25）mmHg、80（28）mmHg、82（29.75）mmHg であった（図 3）。経時的な変動は有意ではなかった（ $P=0.6065$ 、 $P=0.0597$ ）。一方、犬猫ともに手術開始の切皮中に、MAP が手術開始直前の値よりも 15%以上上昇した症例は認められなかった。

手術開始時および手術開始 60 分後における血漿中フェンタニル濃度の中央値（四分位範囲）は、犬で 5.6 (3) ng/mL、5.1 (2.7) ng/mL であり、猫で 9.2 (5.2) ng/mL、9.9 (4.2) ng/mL であった（図 4）。犬猫ともに経時的な変動は有意ではなかった（ $P=0.8753$ および $P=0.9165$ ）。犬と猫の比較では、手術開始時および手術開始 60 分後の血漿中フェンタニル濃度は猫の方が有意に高かった（ $P=0.049$ 、 $P=0.048$ ）。

麻酔前、手術開始時、手術開始 60 分後における血中コルチゾール濃度の中央値（四分位範囲）は、犬では 1.05 (1.725) μ g/dL、0.45 (1.175) μ g/dL、1.6 (5.1) μ g/dL であり、猫では 0.9 (1.25) μ g/dL、0.4 (0.4) μ g/dL、0.25 (0.725) μ g/dL であった（図 5）。犬猫ともに手術開始時の血中コルチゾール値の経時的な変動は有意ではなかった。

麻酔前、手術開始時、手術開始 60 分後における血糖値の中央値（四分位範囲）は、犬では 102 (5.75) mg/dL、111 (25) mg/dL、122 (36.25) mg/dL であり、猫では 130 (32.25) mg/dL、159.5 (43) mg/dL、180.5 (52.75) mg/dL であった（図 6）。犬では麻酔前および手術開始 60 分後の血糖値は、手術開始直前と比較して有意差がなく、猫では麻酔前の血糖値は手術開始直前よりも有意に低かった。

考察

本検討では、犬と猫の様々な手術症例に対して、ほぼ同様の麻酔および麻酔管理を行った。犬猫ともに、手術開始から 60 分間の血漿中フェンタニル濃度は安定しており、第 3 章と同様の投与方法により、様々な背景を持つ手術症例においても、比較的安定した血漿中濃度を維持することが可能であることが明らかとなった。一方、フェンタニルを同用量で同様の方法で投与したにも関わらず、フェンタニルの血漿中濃度は、猫では犬の 2 倍近い濃度であった。第 3 章および本章の結果から、犬と猫ではフェンタニルの薬物動態に違いがあることが示唆された。

犬の手術症例において、術中のイソフルラン濃度および血漿中フェンタニル濃度の中央値は、1.1%および 5.5ng/mL 程度であった。第 3 章の結果から、血漿中フェンタニル濃度が 5.5ng/mL のときイソフルラン MAC-BAR は 1%前後になると予想され、MAC-BAR の濃度は手術症例におけるイソフルラン濃度とほぼ一致する結果となった。このことから第 3 章で検討した、フェンタニル投与速度あるいは血漿中濃度とイソフルラン MAC-BAR の関係性は、犬の手術症例においてフェンタニルとイソフルランを併用するときの良い指標となる可能性が示唆された。犬における同様の検討は、ほとんど報告がないが、Steagall らは、イソフルラン濃度 0.68%およびフェンタニル 30 μ g/kg/hr を併用した麻酔下で、安定した循環動態のもとで犬の片側乳腺摘出術を行うことが可能であったことを報告している (Steagall et al., 2006)。フェンタニルを 30 μ g/kg/hr で投与したとき、イソフルランの MAC-BAR は 0.8~0.9%程度であることが予測されるが、Steagall らの報告では、これよりも低いイソフルラン濃度でも麻酔維持が可能であることが示されている。この報告では麻酔導入時に、アセプロマジン、ブトルファノール、ケタミン、ジアゼパムを使用しており、これらの薬

剤が組み合わせることにより、イソフルラン濃度をさらに低下させたことや、フェンタニルの作用を増強させたことが、MAC-BAR よりも低いイソフルラン濃度で麻酔維持が可能であった要因として考えられる (Heard et al., 1986; Yamashita et al., 2008; Wilson et al., 2008)。したがって、オピオイドに鎮痛作用を持つ薬剤をさらに組み合わせれば、より強力な侵害刺激遮断作用を得ることができることも示唆される。

一方、猫では手術中のイソフルラン濃度および血漿中フェンタニル濃度は、1.3%および 9.5ng/mL 程度であった。第 3 章の結果から、血漿中フェンタニル濃度が 9.5ng/mL のとき、MAC-BAR は 1.9%前後になることが予測されるが、本検討における術中のイソフルラン濃度は MAC-BAR を下回った。Liehmann らの報告によれば、フェンタニル 20 μ g/kg/hr を併用することで術中のイソフルラン濃度 1.19%にて、手術に適した麻酔を維持しながら猫の整形外科手術を行うことが可能であったと報告している (Liehmann et al., 2006)。この報告におけるイソフルラン濃度は、今回の手術症例における維持濃度とほぼ同等であった。犬とは異なり、第 3 章の MAC-BAR と一致しなかった原因の 1 つとして、「手術に適した麻酔」の判定を、心拍数や血圧の変動だけを基準に行わなかった可能性が考えられる。手術中のイソフルラン濃度は、症例の状態すなわち手術刺激に対して体動や心拍数および血圧の変動があまりないことを基準に調節し、手術に適した麻酔を維持した。猫では、術中の心拍数や血圧が高めに維持されていたことから考えても、体動はないが侵害刺激が十分に抑制されていない状態であっても「手術に適した麻酔」と判断していた可能性が考えられた。Liehmann らの報告においても、心拍数や血圧の変動を指標にしながらイソフルラン濃度を調節して手術に適した麻酔を維持しようとしたにも関わらず、手術中の心拍数や血圧は手術開始時よりも 20%以上大きく上昇していたことから、

実際の手術症例では「手術に適した麻酔」の判定を心拍数や血圧の変動だけを基準にしていなかった可能性が考えられた (Liehmman et al., 2006)。

また、別の原因としては、猫の手術症例における体温低下が考えられる。人ではイソフルランやプロポフォールなどの麻酔薬の必要量は、低体温により減少することが知られている (Liu et al., 2001; Mathew et al., 2009)。第3章では健常な犬猫の体温を 38 度前後の正常範囲に維持することが可能であったが、今回の手術症例では加温装置を用いて正常範囲内に保持できるよう努めてはいたが、猫は犬と比べて体温が低下しやすく、開腹その他の影響により正常範囲を逸脱してしまう個体が多かったことが、術中のイソフルラン濃度の低下につながった可能性が考えられた。

本章では、犬と猫の手術症例において、手術操作による侵害刺激がどの程度遮断されているのかを、神経内分泌反応すなわち心拍数、血圧、血中コルチゾール濃度、血糖値の変動を指標にして比較した。犬ではフェンタニルの持続投与とイソフルランを併用した麻酔により、神経内分泌反応は十分に抑制されていたため、手術による侵害刺激は良好に遮断されていたことが示唆された。過去の報告では、オピオイドを併用せずに子宮卵巣摘出術を行った犬では、手術中の血中コルチゾール濃度は術前の 4 倍まで上昇したことが報告されている (Fox et al., 1994; Fox et al., 1998)。今回、手術開始 60 分後の血中コルチゾール濃度は、麻酔前の 2 倍に満たない濃度であり、フェンタニルを併用した麻酔により内分泌反応も十分に抑制されていたことが考えられた。これらの結果から、犬の手術症例では、フェンタニルを併用しながら MAC-BAR を参考としながら、手術操作による心拍数や血圧の有意な上昇が認められない状態を維持することで、生体に対する侵襲を最小限とした麻酔が可能になると考えられた。

猫では手術開始から手術開始 60 分後にかけて心拍数、血圧、血糖値が上昇す

る傾向が認められた。心拍数や血圧は、手術操作による侵害刺激に対する反応と考えられ、フェンタニルによる侵害刺激遮断効果が不十分であった可能性が示唆された。一方、血中コルチゾール濃度は大きな変動がなく、低値で安定していた。Glerum らは猫で子宮卵巣摘出術を行い、鎮痛法としてフェンタニルパッチを使用した群では、パッチを使用しなかった群よりも術中の血中コルチゾール濃度および血糖値が低かったことを報告している (Glerum et al., 2001)。今回、猫の手術症例における血中コルチゾール濃度は、Glerum らのフェンタニルパッチ群のコルチゾール濃度を下回っており、フェンタニル $20 \mu\text{g/kg/hr}$ を投与することで、手術刺激に対するコルチゾールの分泌が抑制されることが示唆された。過去の報告では、血糖値と血中コルチゾール濃度の上昇には関連性が認められているが、本章の手術症例では関連性は認められなかった。関連性の認められなかった原因は不明ではあるが、フェンタニルの直接的な下垂体-副腎皮質系の抑制作用が関与していることが考えられた。オピオイドは下垂体-副腎皮質系を抑制し、コルチゾールの分泌を抑制することが知られている (Locatelli et al., 2009)。この作用に動物種差があること、Glerum らの報告よりも大量のフェンタニルを使用したこと、さらには輸液剤として1%糖加酢酸リンゲル液を用いていたことなどが可能性として考えられたが、今後更なる検討が必要である。

近年、医学では周術期における血糖管理を厳密に行うことで、全身性炎症を軽減できるばかりか、術後感染症、急性腎不全の合併率を低下できる可能性が多くの臨床研究や基礎研究で示されており、周術期における血糖値管理は重要性が増してきている。今回、猫において術中の血糖値の変動と術後の合併症の発生には関連性は認められなかったものの、術中に血糖値が上昇し続ける傾向が認められたため、血糖値上昇の原因究明とともに、今後血糖管理が必要とな

る可能性も示唆された。

犬では、フェンタニルの持続投与とイソフルランを併用した麻酔により、手術中の侵害刺激が遮断され、過剰な神経内分泌反応を抑制することが可能であった。一方、猫では、侵害刺激を遮断できず、神経内分泌反応を十分に抑制できなかつた可能性が高く、侵害刺激遮断効果に種差がある可能性が改めて示唆された。猫では、フェンタニルだけでなく、**NMDA** 受容体阻害薬であるケタミン、 α_2 アドレナリン受容体阻害薬であるメドトミジンなどを併用して、侵害刺激遮断作用を補うことが必要である可能性も示唆された。

表 1 犬猫 28 症例の内訳

症例	性別	体重 (kg)	年齢 (歳)	手術内容
犬1	避妊雌	4.7	4.9	縫合系反応性肉芽腫切除
犬2	雄	7.45	9.4	脾臓摘出
犬3	避妊雌	38.6	11.2	乳腺摘出
犬4	雌	7.15	3.6	異所性尿管(尿管移植)
犬5	去勢雄	10.1	13.5	左前肢断脚
犬6	雌	15	7.8	胆嚢摘出
犬7	雄	23.4	12.4	脾臓摘出
犬8	雌	22.6	11.6	子宮卵巣摘出 片側乳腺部分摘出
犬9	避妊雌	4.7	7.9	試験開腹
犬10	雌	63	7.1	子宮卵巣摘出
犬11	避妊雌	30.9	4.7	右前第2指断指
犬12	雄	8.2	5.7	胆嚢摘出
犬13	雌	5.1	5.2	片側椎弓切除
犬14	雌	5.7	8.6	片側椎弓切除
猫1	去勢雄	6.3	5.2	結腸亜全摘
猫2	去勢雄	4.4	5.7	結腸亜全摘
猫3	雄	3.9	8.9	盲腸切除
猫4	避妊雌	4.9	11.9	脾臓摘出
猫5	去勢雄	5.1	13.1	片側椎弓切除
猫6	去勢雄	2.9	3.2	会陰尿道造ろう
猫7	去勢雄	3.6	1.3	骨盤部分摘出
猫8	雌	2.8	1.1	横隔膜ヘルニア整復
猫9	避妊雌	3.8	12.1	試験開腹
猫10	雌	4.4	13.2	試験開腹
猫11	避妊雌	4.8	6.2	心のう膜切除
猫12	雄	5.9	1.3	左大腿骨骨折整復固定
猫13	避妊雌	3.1	2.5	腸管異物摘出(腸切開)
猫14	去勢雄	7.8	11.2	肝生検

注)性別、年齢、手術内容に偏りなし(χ^2 検定、 $P=0.8786$ 、 $P=0.1233$ 、 $P=0.4894$)

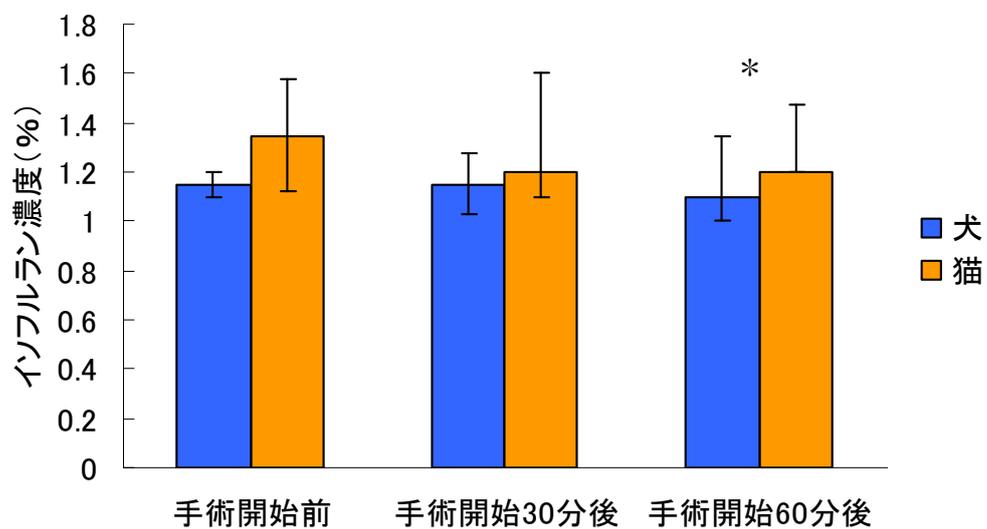


図1 犬猫の手術症例におけるイソフルラン濃度の変化

注1) 中央値、第1四分位と第3四分位の範囲を表記

注2) 犬、猫それぞれ有意な経時的変動なし

(Friedman 検定、 $P=0.8515$ 、 $P=0.5004$)

注3) * 犬と猫で有意差あり (Mann-Whitney U 検定、 $P=0.03$)

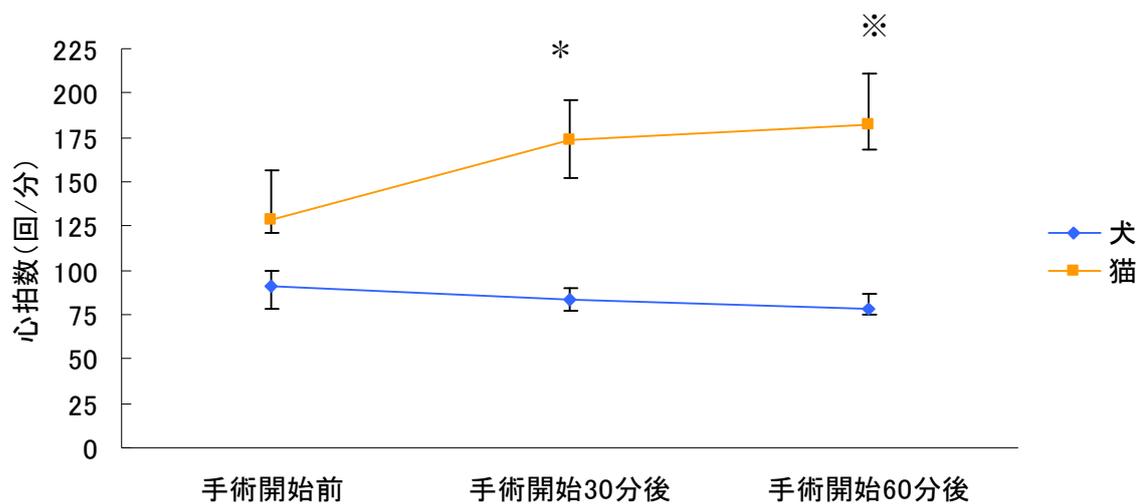


図 2 犬猫の手術症例における心拍数の変化

注1) 中央値、第 1 四分位と第 3 四分位の範囲を表記

注2) 犬において有意な経時的変動なし (Friedman 検定、 $P=0.2354$)

注3) 猫において有意な経時的変動あり (Friedman 検定、 $P=0.011$)

注4) 手術開始 30、60 分後の心拍数は手術開始前よりも有意に上昇した (Scheffe 法、 $*P=0.0024$ 、 $※P=0.0006$)

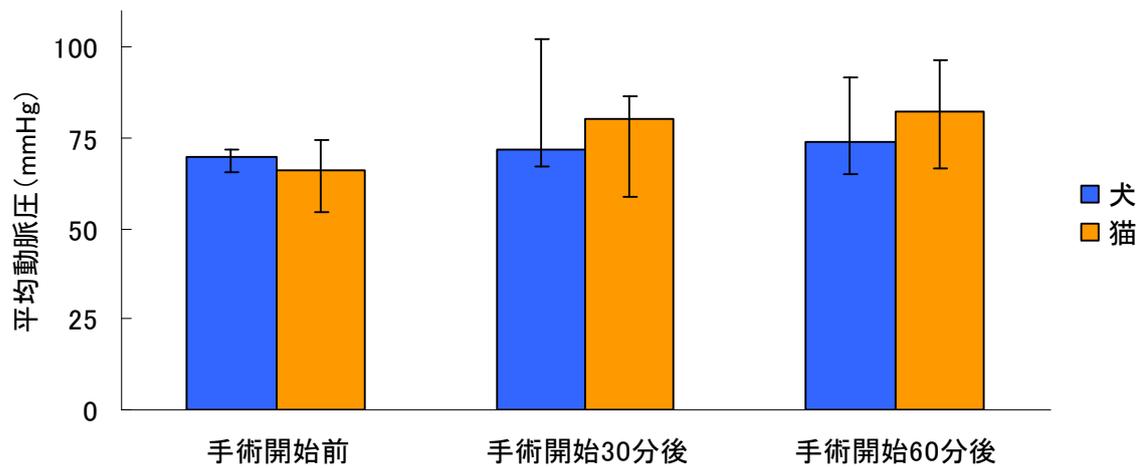


図 3 犬猫の手術症例における平均動脈圧の変化

注 1) 中央値、第 1 四分位と第 3 四分位の範囲を表記

注 2) 犬、猫それぞれにおいて有意な経時的変動はなかった
(Friedman 検定、 $P=0.6065$ 、 $P=0.0597$)

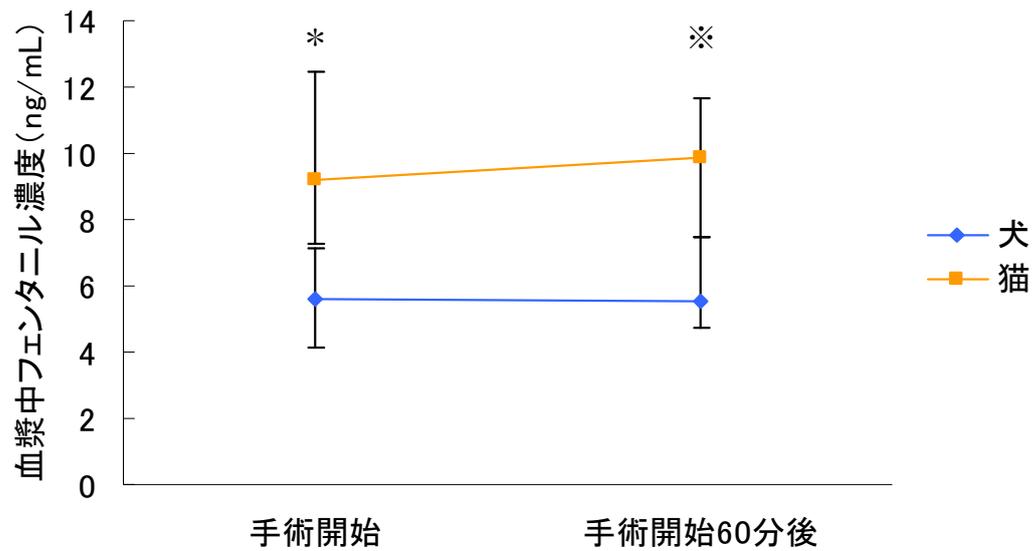


図 1 犬猫の手術症例における血漿中フェンタニル濃度の変化

注 1) 中央値、第 1 四分位と第 3 四分位の範囲を表記

注 2) 犬、猫それぞれにおいて有意な経時的変動なし

(Wilcoxon 符号順位和測定、 $P=0.8753$ 、 $P=0.9165$)

注 3) 犬と猫で有意差あり (Mann-Whitney U 検定、 $*P=0.049$ 、 $※P=0.048$)

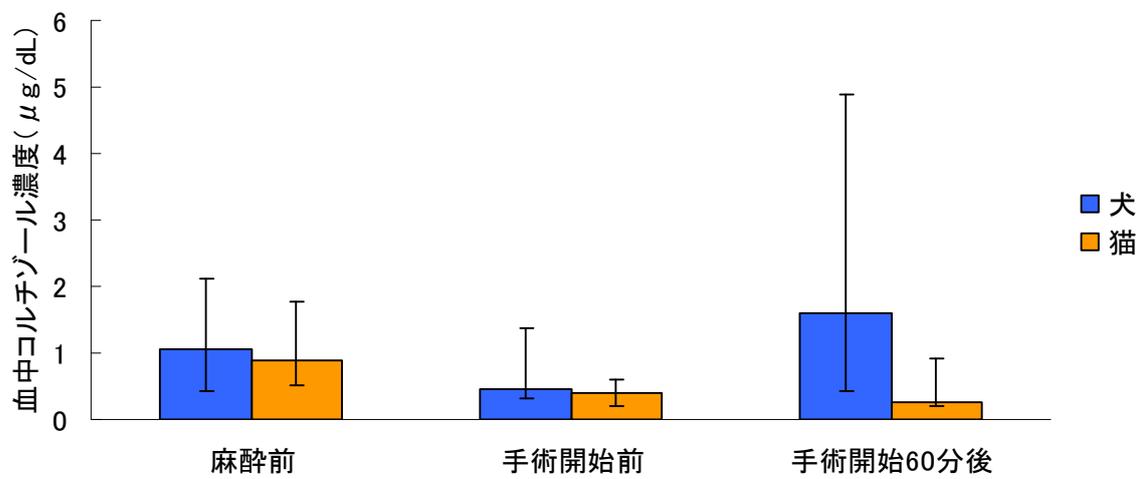


図 5 犬猫の手術症例における血中コルチゾール濃度の変化

注 1) 中央値、第 1 四分位と第 3 四分位の範囲を表記

注 2) 犬猫ともに手術開始前を対照とすると、麻酔前、手術開始 60 分後のコルチゾール濃度に有意差なし (Dunnett 法、 $P < 0.05$)

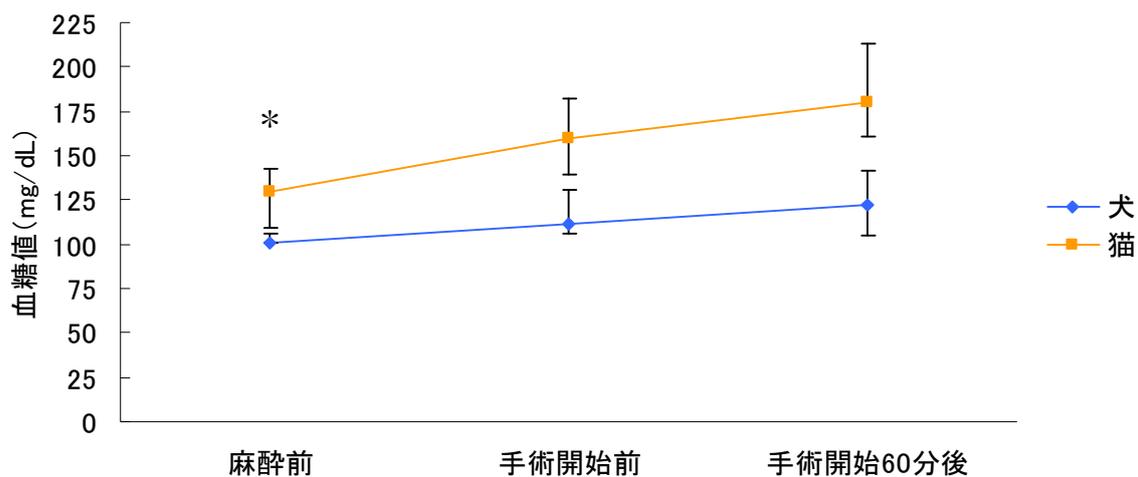


図 6 犬猫の手術症例における血糖値の変化

- 注 1) 中央値、第 1 四分位と第 3 四分位の範囲を表記
- 注 2) 手術開始前を対照とすると、犬では麻酔前、手術開始 60 分後の血糖値は対照と比較して有意な変化なし (Dunnett 法)
- 注 3) *手術開始前を対照とすると、猫では麻酔前の血糖値が有意に低かった (Dunnett 法、 $P < 0.05$)

第5章

犬と猫におけるモルヒネ、フェンタニル、レミフェンタニルの薬物動態の比較

医療においてモルヒネやフェンタニルなどのオピオイドは、獣医療よりも更に広範に用いられており、周術期だけでなく癌性疼痛などの疼痛管理に重要な役割を果たしている。しかし、人においては鎮痛作用だけでなく嘔吐、悪心、掻痒、耐性などの副作用が発現する投与量、もしくは血中濃度には比較的大きな個人差が認められることが、オピオイドの臨床応用上の1つの問題となっている。一方、動物種間にもオピオイドの作用に差があることが認められており、馬に対してオピオイドは興奮作用を発揮し、逆に犬に対しては鎮静作用を発揮することが知られている (Hellyer et al., 2003)。また、第2~4章の結果から、犬と猫では意識や行動および自律神経に与える影響、侵害刺激遮断作用に大きな違いがあることが明らかとなった。

薬剤の効果に個体間あるいは動物種間で差が認められる要因として、同じ投与量であっても、①効果器官における薬物濃度が異なること、②効果器官における受容体の量的な違いがあること、③効果器官における受容体の質的な違いがあること、などが挙げられるが、まずは代謝物を含めた薬物動態の検討が一般的である。第3、4章の結果から、同用量のフェンタニルを投与しても犬と猫では血漿中濃度に違いが生じたため、実際に薬物代謝に違いが存在する可能性が高いことが示唆される。

現在、獣医療で鎮痛薬として一般的に用いられている麻薬系オピオイドは、 μ 受容体作動薬であり、第2章で用いたモルヒネおよび第2、3、4章で用いた

フェンタニルは広く使用されている。 μ 受容体選択性が高く、作用時間の短いフェンタニルは周術期を中心に用いられ、モルヒネは周術期を含めて癌性疼痛の管理にも幅広く用いられている。さらに最近では、 μ 受容体作動薬であり、超短時間作用性オピオイドであるレミフェンタニルが術中鎮痛に用いられるようになってきている。

本章では、犬と猫においてオピオイドの作用に違いが生じる機構を明らかにする目的で薬物動態に着目し、モルヒネ、フェンタニル、レミフェンタニルの薬物動態を比較検討した。また、代謝産物が生理活性を示す可能性のあるモルヒネについては、代謝産物（M3G : morphine-3-glucuronide、M6G : morphine-6-glucuronide）に関しても血漿中濃度を測定した。

材料と方法

本実験は、東京大学大学院農学生命科学研究科動物実験委員会の許可を得て行った。

実験動物

身体検査および血液検査により健康と判断されたビーグル犬 6 頭（年齢（平均±標準偏差）：5.6±0.6 歳，体重（平均±標準偏差）：11.5kg±1.9kg，雌：6 頭）および猫 6 頭（年齢（平均±標準偏差）：3.3±0.3 歳，体重（平均±標準偏差）：4.3±0.6 kg，雌：3 頭，雄：3 頭）を、以下に示す実験群に繰り返し用いた。なお同一の動物を一つの群で複数回用いることはしなかった。実験当日は実験開始の 12 時間前から絶食としたが、飲水は制限しなかった。同一の動物を繰り返し用いる際は、最低 7 日間の間隔をあけた。

実験群

フェンタニル群 ：フェンタニル 10 μ g/kg 静脈内単回投与

モルヒネ群 ：モルヒネ 0.6mg/kg 静脈内単回投与

レミフェンタニル群：レミフェンタニル 1.5 μ g/kg/min 5 分間静脈内持続投与

実験方法

カテーテルの留置

実験実施の前日にイソフルラン麻酔下で、採血用に 20G 中心静脈カテーテル (Argyle[®]; 日本シャーウッド株式会社, 東京) を頸静脈に留置し、中心静脈カテーテルを留置した頸静脈と対側の橈側皮静脈に、薬剤投与用に 24G 留置針 (サーフロー[®]F&F; テルモ株式会社, 東京) を留置した。カテーテルは皮膚に糸で固定し、伸縮包帯 (ZONAS[®]; ジョンソン・エンド・ジョンソン株式会社, 東京) で保護した。留置したカテーテル内での血液凝固を防ぐため、8 時間毎にヘパリン加生理食塩水 1mL をカテーテル内に注入した。麻酔覚醒から 12 時間以上経過した後に、薬剤投与を行った。

フェンタニルの投与方法および採血時間

フェンタニル (フェンタニル注射液 0.1mg 「第一三共」; 第一三共プロファーマ株式会社, 東京) 10 μ g/kg を 1 分かけて静脈内に投与し、投与 1、2、5、10、20、40、60、120、240、360、720、1440 分後に頸静脈から静脈血 1mL を採取した。採取した血液はヘパリンチューブに移して遠心処理 (3000rpm, 10 分) を行い、分離した血漿を -80°C で冷凍保存した。

モルヒネの投与方法および採血時間

モルヒネ (モルヒネ塩酸塩注射液 10mg 「第一三共」; 第一三共プロファーマ株式会社, 東京) 0.6mg/kg を 1 分かけて静脈内に投与し、投与 1、2、5、10、20、40、60、120、240、360、720、1440 分後に頸静脈から静脈血 1mL を採取した。採取した血液はヘパリンチューブに移して遠心処理 (3000rpm, 10 分) を行い、分離した血漿を -80°C で冷凍保存した。

レミフェンタニルの投与方法および採血時間

レミフェンタニル（アルチバ；ヤンセンファーマ株式会社，東京）を $1.5 \mu\text{g/kg/min}$ の速度で 5 分間静脈内に持続投与し、投与 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、14、16、18、20、25 分後に頸静脈から静脈血 1mL を採取した。採取した血液は、血液の凝固およびレミフェンタニルの分解を防止するため、ヘパリン 10 単位および 50% (v/v) クエン酸 $10 \mu\text{L}$ が入ったチューブに移し、よく混和した後、 -80°C で冷凍保存した。

血漿中フェンタニル濃度の測定

第 3 章と同様の方法で測定した。

血漿中モルヒネ、M6G、M3G 濃度の測定

血漿中のモルヒネおよび代謝物である M6G、M3G の濃度測定は高速液体クロマトグラフ/質量分析法 (HPLC/MS) を用いて行った。まず、メタノール、蒸留水、炭酸ナトリウム緩衝液 (pH10, 0.2M) 各 1mL でコンディショニングした固相抽出カートリッジ (Oasis HLB cartridge 1cc/30mg; Waters, Milford, MA, USA) に、室温で解凍した血漿 0.4mL に蒸留水 0.1mL および炭酸ナトリウム緩衝液 (pH10, 0.2M) 0.5mL を加えた混合液を添加した。炭酸ナトリウム緩衝液 (pH9, 0.005M) 1mL および蒸留水 1mL で洗浄後、メタノール 1mL で溶出させた。溶出液をエバポレーター (CVE-2000; 東京理化工株式会社, 東京) を用いて陰圧下で蒸発乾固 (40°C , over night) させ、移動相 $50 \mu\text{L}$ に溶解して測定試料を作成した。測定装置はポンプ (L-7200; 日立ハイテクノロジーズ株式会社, 東京)、UV 検出器 (L-7405; 日立ハイテクノロジーズ株式会社, 東京)、インテグレーター (D-7000; 日立ハイテクノロジーズ株式会社, 東京)、

MS 検出器 (M-8000 ; 日立ハイテクノロジーズ株式会社, 東京) を用い、分析条件は第 1 細孔温度 : 110°C、シールド温度 : 200°C、ドリフト電圧 : 60V、移動相の流速 : 0. 2mL/min、測定時間 : 12 分、カラム温度 : 40°Cとした。イオン化されたモルヒネ、M6G、M3G の質量数/電荷(m/z)比は 286、462、462m/z として検出を行った。試料の分離には逆相系カラム (Symmetry C₁₈ ; Waters, Milford, MA, USA) を用い、移動相としてメタノールと 0.01%(v/v)ギ酸の 1/19(v/v)混合液を使用し、測定試料の 10 μL を HPLC 装置に注入した。覚醒下の動物から採血した血液を遠心分離して得られた無添加の血漿にモルヒネ、M6G (Morphine-6 β -D-glucuronide ; Cerilliant Corporation, TX, USA)、M3G (Morphine-3 β -D-glucuronide ; Cerilliant Corporation, TX, USA) の標準品を加え、モルヒネ ; 0、1、5、10、50、100、500、1000ng/ml、M6G ; 0、5、10、50、100ng/ml、M3G ; 0、10、50、100、500、1000ng/ml となるように調整した標準試料を用いて検量線を作成した。作成した検量線に基づき、試料中のモルヒネ、M3G、M6G 濃度を算出した。

血中レミフェンタニル濃度の測定

血中のレミフェンタニルの濃度測定は、高速液体クロマトグラフ/質量分析法 (HPLC/MS) を用いて行った。室温で解凍した全血サンプル 1mL にアセトニトリル 0.5mL を加えて 1 分間混和した後、遠心処理 (4000rpm, 8°C, 10 分間) を行い、上清 0.5mL を回収した。メタノール 2mL、蒸留水 4mL でコンディショニングした固相抽出カートリッジ (Oasis HLB cartridge 3cc/60mg ; Waters, Milford, MA, USA) に、回収した上清 0.5mL と蒸留水 1mL を添加して混和させた後、2%(v/v)酢酸 2mL、蒸留水とメタノールと酢酸の 93/5/2(v/v)混合溶液 2mL で洗浄後、メタノールと 2%酢酸の 60/40(v/v)混合溶液 1mL で溶出させた。

溶出液をエバポレーター (CVE-2000 ; 東京理化工株式会社, 東京) を用いて陰圧下で蒸発乾固 (40°C、over night) させ、メタノール 40 μ L に溶解して測定試料を作成した。測定装置はポンプ (LC-20AD ; 島津製作所, 京都)、システムコントローラー (CBM-20A, 島津製作所, 京都)、オートサンプラー (SIL-20AC ; 島津製作所, 京都)、UV-VIS 検出器 (SPD-20A ; 島津製作所, 京都)、カラムオーブン (CTO-20AC, 島津製作所, 京都)、MS 検出器 (API3200 ; ABSciex, 東京) を用いた。分析は Q1-multiple reaction mode(MRM)で行い、ソース温度 : 500°C、イオン化電圧 : 5kV、Declustering Potencial(DP) : 40.0、Entrance Potencial(EP) : 7.0、移動相の流速 : 0.2mL/min、測定時間 : 6 分、オートサンプラー温度 : 4°C、カラム温度 : 40°Cとした。イオン化されたレミフェンタニルの質量数/電荷(m/z)比を 377m/z として検出を行った。分離には逆相系カラム (Symmetry C₁₈ ; Waters, Milford, MA, USA) を用い、移動相としてメタノールと酢酸アンモニウム(0.01M)の 65/35(v/v)混合液を使用し、測定試料の 5 μ L を HPLC 装置に注入した。覚醒下の動物から採血した無添加の全血に、ヘパリン 10 単位、50% (v/v) クエン酸 10 μ L、レミフェンタニルの標準品を加えて 0.1、0.5、1.0、5.0、10、50ng/ml となるように調整した標準試料を用いて検量線を作成した。作成した検量線を基に、測定試料中のレミフェンタニル濃度を算出した。

薬物動態解析

フェンタニル、モルヒネの薬物動態解析

血漿中フェンタニルあるいはモルヒネ濃度を Y 軸、採血時間を X 軸とした血漿中濃度-時間曲線を作成した。血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC) は台形公式を用い、濃度曲線の最後部分を外挿して算出した。薬物動態解析プログラ

ム MULTI (Yamaoka et al., 1981) を用いてコンパートメントモデル解析を行い、各相における速度定数 (α , β)、ゼロ切片時間 (A, B) を求めた。さらに以下の計算式により、各相の半減期 ($t_{1/2\alpha}$, $t_{1/2\beta}$)、微小速度定数 (k_{el} , k_{21} , k_{12})、全身クリアランス (CL_{tot})、分布容積 (V_1 , V_{ss}) を算出した。算出したパラメーターは、平均値±標準偏差で表記した。

$$\alpha \text{ 相半減期 : } t_{1/2\alpha} = 0.693/\alpha$$

$$\beta \text{ 相半減期 : } t_{1/2\beta} = 0.693/\beta$$

$$\text{微小速度定数 : } k_{el} = \alpha \beta / k_{21}$$

$$k_{21} = (A \beta + B \alpha) / (A + B)$$

$$k_{12} = \alpha + \beta - k_{21} - k_{el}$$

$$\text{全身クリアランス : } CL_{tot} = \text{Dose} / \text{AUC}$$

$$\text{中枢コンパートメント面積 : } V_1 = \text{Dose} / (A + B)$$

$$\text{定常状態分布容積 : } V_{ss} = (1 + k_{12}/k_{21}) \cdot V_1$$

レミフェンタニル薬物動態解析

血中レミフェンタニル濃度を Y 軸、採血時間を X 軸とした血中濃度-時間曲線を作成した。血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC) は台形公式を用い、濃度曲線の最後部分を外挿して算出した。薬物動態解析プログラム MULTI を用い、モーメント分析によって平均滞留時間(mean residence time : MRT)、半減期 ($t_{1/2}$) を求めた。さらに以下の式により全身クリアランス (CL_{tot})、定常状態分布容積 (V_{ss}) を算出した。算出したパラメーターは、平均値±標準偏差で表記した。

$$\text{全身クリアランス : } CL_{tot} = \text{Dose} / \text{AUC}$$

$$\text{定常状態分布容積 : } V_{ss} = \text{MRT} \cdot \text{TBCL}$$

結果

フェンタニル $10 \mu\text{g/kg}$ を犬と猫の静脈内に単回投与したところ、血漿中フェンタニル濃度はいずれも 2 相性の減少を示し、全ての測定点において猫のフェンタニルの血漿中濃度は、犬の血漿中濃度を上回った (図 1)。このとき、フェンタニルの投与に伴う意識や行動の変化は、第 2 章の結果とほぼ同様であった。2-コンパートメントモデル解析により算出した薬物動態パラメーターを、表 1 に示した。犬の $t_{1/2\beta}$ ($48.4 \pm 10.7\text{min}$) は、猫 ($82.5 \pm 20.4\text{min}$) よりも短かった。また、犬の CL_{tot} ($65.8 \pm 19.7\text{mL/min/kg}$) は、猫 ($34.1 \pm 14.5\text{mL/min/kg}$) の約 2 倍であり、犬の V_{ss} ($4135.4 \pm 1628.7\text{mL/kg}$) は、猫 ($2876.5 \pm 1074.7\text{mL/kg}$) よりも大きかった。

モルヒネ 0.6mg/kg を犬と猫の静脈内に単回投与したところ、血漿中モルヒネ濃度はいずれも 2 相性の減少を示し、全ての測定点において猫の血漿中濃度は犬の血漿中濃度を上回った (図 2)。また、犬では投与 2 分後から、モルヒネの代謝物である M3G の血漿中濃度が上昇し始め、投与 20~40 分後に最高濃度に達し、その後は緩やかに低下した (図 2)。一方、犬では血漿中に M6G は検出されず、猫では M3G、M6G とともに検出されなかった。このとき、モルヒネの投与に伴う意識および行動の変化は、第 2 章の結果とほぼ同様であった。2-コンパートメントモデル解析により算出した薬物動態パラメーターを、表 2 に示した。犬の $t_{1/2\beta}$ ($69.9 \pm 23.3\text{min}$) は、猫 ($81.1 \pm 43.2\text{min}$) よりも短かった。また、犬の CL_{tot} ($96.2 \pm 17.9\text{mL/min/kg}$) は、猫 ($35.3 \pm 12.3\text{mL/min/kg}$) の約 2.8 倍であり、犬の V_{ss} ($5279.8 \pm 2476.1\text{mL/kg}$) は、猫 ($2870.5 \pm 805.7\text{mL/kg}$) よりも大きかった。

レミフェンタニルを犬と猫に $1.5 \mu\text{g/kg/min}$ の投与速度で 5 分間静脈内に持続投与したところ、血中レミフェンタニル濃度は投与開始直後から速やかに上

昇し、投与開始 5 分後に最高血中濃度に到達し、投与終了に伴い速やかに低下した (図 3)。

犬ではレミフェンタニル投与開始 2~3 分後には、全 6 頭が立位から坐位あるいは腹臥位となった。投与開始 10~13 分後、すなわちレミフェンタニル投与終了から 5~8 分後まで坐位あるいは腹臥位が維持され、その後は投与前と同じく立位となった。一方、猫ではレミフェンタニル投与開始 2~3 分後から全 6 頭の活動性が上昇し、ケージ内を歩き回る、ケージの壁をよじ登る、ケージから飛び出そうとするなどの行動が観察された。活動性は上昇したものの、明らかな興奮あるいは攻撃的な行動は観察されなかった。投与開始 8~9 分後、すなわちレミフェンタニル投与終了から 3~4 分後には、活動性は低下して薬剤投与前と同様の状態となった。

モーメント解析により算出した薬物動態パラメータを、表 3 に示した。犬の MRT、 $t_{1/2}$ ($5.2 \pm 0.7 \text{min}$ 、 $6.1 \pm 1.7 \text{min}$) は、猫 ($3.6 \pm 0.3 \text{min}$ 、 $3.6 \pm 2.8 \text{min}$) よりも長かった。犬の CL_{tot} ($82.7 \pm 27.3 \text{mL/min/kg}$) は猫 ($288.7 \pm 103.7 \text{mL/min/kg}$) の約 1/3 であり、犬の V_{ss} ($437 \pm 172 \text{mL/kg}$) は猫 ($1008 \pm 335 \text{mL/kg}$) の約 1/2 であった。

考察

薬物が期待される効果を発揮するためには、効果器官に適正な量の薬物が存在することが必要であり、薬物量が高すぎると毒性が発現し、逆に低すぎると十分な効果は得られない。これまでの第2～4章での検討で、犬と猫におけるオピオイドの作用に比較的大きな違いが認められたため、その原因を明らかにする目的で、本章では薬物動態の差異に注目して検討を行った。

今回の検討では、モルヒネに関しては代謝産物についても検討を行った。モルヒネ([5 α ,6 α]-7,8-didehydro-4,5-epoxy-17-methylmorphinan-3,6-diol)は、人では肝臓でグルクロン酸抱合により代謝され、主として、morphine-3 β -D-glucuronide : M3G (7,8-Didehydro-4,5-epoxy-17-methylmorphinan-6-ol-3-beta-glucuronic acid) あるいは morphine-6 β -D-glucuronide : M6G ([5 α ,6 α]-7,8-Didehydro-4,5-epoxy-3-hydroxyl-17-methylmorphinan-6-yl- β -D-glucopyranosiduronic acid) として腎臓から排泄されることが知られている (Faura et al., 1998)。このうち、M3Gはオピオイド受容体には結合しないものの、オピオイド受容体とは別の経路を介して中枢神経系に作用して興奮、知覚過敏、せん妄などの副作用を発揮すると考えられており、モルヒネの鎮痛作用を弱める作用を持つことも示唆されている (Wolff et al., 1995)。一方、M6Gはオピオイド受容体に結合して鎮痛作用を発揮し、モルヒネの3～4倍の鎮痛効果を発揮するが、腎機能低下時には蓄積して傾眠、悪心、嘔吐、呼吸抑制などの副作用が発現することが報告されている (Portenoy et al., 1991; Shimomura et al., 1971)。人と同様に、モルヒネは犬や猫においても、代謝産物の動態が薬力学的に影響する可能性を考慮し、代謝産物の評価を行なった。

フェンタニル (N-phenylethyl-N-[1,2-phenylethyl]-4-piperidyl-propanamide)は、人では肝臓でN-脱アルキル化と水酸化により代謝され、主

として、薬理活性のないノルフェンタニルとして腎臓から排泄される (Feierman, 1996; Lin et al., 1981)。また、レミフェンタニル(methyl 1-[2-methoxycarbonylethyl]-4-[phenyl-propanoyl-aminol]-piperidine-4-carboxylate)は、人では血液および組織中の非特異的エステラーゼによって速やかに加水分解され、力価がレミフェンタニルの 1/1000 程度の GI90291 として腎臓から排泄される (Egan et al., 1993)。以上の背景から、フェンタニルとレミフェンタニルについては代謝産物の検討は行わなかった。

今回の検討では、フェンタニルとモルヒネではコンパートメントモデルによる薬物動態解析を行った。この解析法は、生体を 1 つあるいは 2 つの区画またはそれ以上の区画とみなして解析する手法である。犬と猫において、フェンタニル単回静脈内投与後のフェンタニル血漿中濃度は、過去の報告と同様に 2 相性の減少を示し、2-コンパートメントモデルに当てはめることができた (Lee et al., 2000; Sano et al., 2006)。

2-コンパートメントモデルは、血液および肝臓や腎臓などの血流が豊かな臓器を中心コンパートメント、筋肉や脂肪など血流が少ない臓器など中心コンパートメントと分布平衡を示すコンパートメントを末梢コンパートメントとし、血漿中濃度推移を時間に対して片対数プロットすると 2 つの直線からなる濃度推移を示す薬物に適応される。猫におけるフェンタニルの血漿中濃度は、常に犬の血漿中濃度の 2 倍程度高く、得られた薬物動態パラメーターには比較的大きな違いが認められた。

犬のフェンタニルの全身クリアランス (66mL/kg/min) は、猫のクリアランス (34mL/kg/min) の約 2 倍であった。クリアランスは生体から薬物を消去する能力を血液の量で表したものであり、全身クリアランスは肝臓、腎臓、その他の臓器におけるクリアランスの総和である。人におけるフェンタニルの全身

クリアランスは、10~20mL/min/kg と肝血漿流量とほぼ同等であることが報告されている (Boxenbaum, 1980; McClain and Hug, 1980)。すなわち、人ではフェンタニルの代謝は肝血漿流量依存性であることが示唆されるが、実際に人では静脈内投与されたフェンタニルは 90%以上が肝臓で代謝され、残りの 10% が代謝を受けずに、尿や糞便中に排泄される (McClain and Hug, 1980)。一方、犬の肝血漿血流量は 40mL/min/kg であることが報告されている (Boxenbaum, 1980)。今回の検討における犬の全身クリアランスは、報告された肝血漿流量を大幅に上回っており、フェンタニルは肝臓における代謝だけでなく肝外でも代謝されていることが示唆された。肝外代謝は腎臓が主要な役割を果たすことが多いが、犬では腎血漿流量は 13mL/min/kg と報告されている (Laroute et al., 1999)。犬におけるフェンタニルの全身クリアランスは肝血漿流量および腎血漿流量を上回るため、犬では肝腎以外の代謝系路の存在も示唆された。猫の肝血漿流量は 32mL/min/kg と報告されているため、肝血漿流量は 17~19mL/min/kg 程度と予測される (Lautt and Legare, 1999)。今回の検討では、猫の全身クリアランスも、予測される肝血漿流量を大幅に上回っており、フェンタニルは猫においても肝臓における代謝だけでなく肝外でも代謝されていることが示唆された。また、猫の腎血漿流は 8.3mL/min/kg と報告されている (McClellan et al., 2006)。したがって、猫においても肝腎以外の代謝系路の存在が示唆される結果となった。フェンタニルの代謝能力は犬のほうが遥かに大きく、フェンタニル投与後、常に猫の血漿中濃度のほうが高かった一つの理由と考えられた。

人ではフェンタニルは肝臓で CYP3A によりノルフェンタニルに代謝されることが知られているが、CYP3A の活性には犬と猫で種差があることが報告されている (Labroo et al., 1997; Shah et al., 2007)。したがって、犬と猫におけるフェンタニルの全身クリアランスの違いは、肝血漿流量の違いや肝外代謝の

違いに加えて、代謝酵素の活性の違いも関係している可能性が考えられた。また、猫では肝血漿流量が犬よりも小さく、全身クリアランスが低いため、肝機能の低下した猫では同様に肝機能の低下した犬よりも、より慎重にフェンタニルの投与を行う必要があることも示唆された。

フェンタニルの分布容積は犬で4.1L/kg、猫で2.9L/kgであった。分布容積は、薬物を投与した際に薬物が分布する仮の容積を体液量で表したものである。分布容積が血液量を超える薬物は、血管外の細胞外液や組織に移行しやすいことを示す。したがって、今回の検討からフェンタニルは犬と猫のいずれにおいても血液中から組織に移行しやすい性質を持つ薬物であることが示されたが、その程度は犬の方がより大きいことが明らかとなった。分布容積の違いは、フェンタニルの血中蛋白結合率が犬と猫で異なる可能性を示唆しているが、詳細な機序は不明である。フェンタニルの静脈内単回投与により猫では犬よりも、分布容積が小さく全身クリアランスも低いことからフェンタニルの血漿中濃度が高くなることが明らかとなった。第2章ではフェンタニル単回静脈内投与後に、猫で一過性の活動性上昇が観察され、活動性上昇を引き起こす作用は用量依存性であった。このときフェンタニルの血漿中濃度が同用量を投与した犬よりも高くなっており、犬と猫における反応の違いの原因となった可能性が考えられたが、猫では活動性が明らかに上昇する血漿中濃度となると予測される投与量においても、犬では活動性の上昇は生じなかった。したがって、猫でフェンタニル投与後に活動性上昇をもたらす要因には血漿中フェンタニル濃度の高さ以外に、中枢神経系におけるドパミン放出促進の違いや、散瞳の影響など犬とは異なる機構が存在することも示唆された (Dhasnmana et al., 1972; Robertson and Taylor, 2004)。

分布相半減期は、中心コンパートメントから末梢コンパートメントへ薬物が

移行して平衡状態となる分布相において、血中濃度が半減するまでに要する時間である。薬物が体外に完全に排泄されるには除去相半減期を 5 回分の時間が経過する必要がある。フェンタニルの分布相半減期は猫では犬の約 4 倍であり単回投与後の血漿中濃度が高い状態が維持される時間が長いため、活動性上昇に結びつくことが考えられた。また、除去相半減期は猫では犬の約 1.6 倍であり、猫では犬と比較してフェンタニルの作用時間が長く生体からの排出にも時間がかかることが明らかとなったが、活動性上昇はフェンタニル投与後から数分以内で終息するので除去相半減期の長さは、活動性の上昇と関連性は低いことが考えられた。

犬と猫におけるモルヒネ単回静脈内投与後のモルヒネ血漿中濃度は、過去の報告と同様に 2 相性の減少を示し、2-コンパートメントモデルに当てはめることができた (Kukanich et al., 2005)。また、Taylor らはモーメント解析を用いて、モルヒネの薬物動態を解析している (Taylor et al., 2001)。コンパートメントモデルによく当てはまる血中濃度の推移を示す薬物では、モーメント解析とコンパートメントモデル解析の結果は、ほぼ一致することが知られており、本検討と過去に報告された薬物動態パラメーターがほぼ同等であることから、2-コンパートメントモデルによる解析は妥当であったと考えられる。モルヒネの静脈内単回投与においても、モルヒネの血漿中濃度は猫の方が常に犬よりも 2 倍程度高い濃度となった。

本章では、犬におけるモルヒネの全身クリアランスは約 96mL/min/kg であり、モルヒネは肝臓における代謝だけでなく、肝外代謝も受けていることが示唆された。一方、猫の全身クリアランスは約 35mL/min/kg であり、猫においても犬と同様に肝外代謝を受けていることが示唆された。人では、大部分のモルヒネは肝臓でグルクロン酸抱合を受け、M3G あるいは M6G となり腎臓から排出さ

れるが、全身クリアランスは肝血漿流量を上回り、人ではモルヒネは肝外、特に腎臓で代謝されていることが明らかとなっている (Mazoit et al., 1990)。人と同様に犬と猫において、腎臓は肝外代謝で主要な役割を果たしていることが推測されるが、全身クリアランスは肝血漿流量と腎血漿流量を上回るため、肝腎以外の代謝経路の存在も示唆された。今回、犬においてグルクロン酸抱合されたモルヒネ代謝産物のうち、高濃度の M3G が検出されたが M6G は検出されなかった。今回の結果からは、犬では M6G が生成されないのか、生成量が測定法の検出限界未満を下回る量であったのかは不明である。Mabuchi らは、犬にモルヒネ 120mg を口腔内投与したところ、代謝産物として M3G と M6G を検出したが、M6G の濃度は M3G の 1/100 程度であったことを報告している (Mabuchi et al., 2004)。また、Kukanich らは、犬にモルヒネ 0.5mg/kg を静脈内投与あるいは口腔内投与したところ、M6G が検出されなかったことを報告している (Kukanich et al., 2005)。過去の報告とあわせて、犬においては通常用量のモルヒネの投与後に鎮痛作用を持つ M6G はほとんど産生されておらず、モルヒネの鎮痛作用に寄与しないことが示唆されたが、高濃度で検出された M3G の作用については今後さらに検討を加える必要があると考えられた。一方、猫ではモルヒネ投与後、グルクロン酸抱合された代謝産物である M3G、M6G は血中からは検出されなかったが、その原因は、猫ではグルクロン酸抱合能が著しく低いことが影響していると考えられ、過去の報告と同様の結果であった (Taylor et al., 2001)。ただし、猫におけるモルヒネの代謝経路、代謝産物は未だに不明であり、M3G や M6G とは異なる代謝産物がモルヒネ投与後の反応に関与している可能性は否定できないため、今後更なる検討が必要である。

犬と猫におけるモルヒネの分布容積はそれぞれ、5.3L/kg および 2.9L/kg であることから、モルヒネは犬と猫において、血液中から組織に移行しやすい性質

を持つ薬物であることが示され、その程度は犬のほうが大きいこと明らかとなった。分布容積の違いは、モルヒネの血中蛋白結合率が犬と猫で異なる可能性を示唆しているが、詳細は不明である。猫は犬と比較して分布容積が小さく、全身クリアランスも低いため、モルヒネの血漿中濃度が高くなりやすく、高濃度のモルヒネによる副作用が発現しやすいことが示唆された。第 2 章ではモルヒネの投与により、犬では用量依存性に意識レベルの低下を伴う活動性低下が認められたが、猫では意識を保持して座位のまま不動化する様子が観察された。モルヒネの血漿中濃度が同等と予測される状態においても、犬と猫では反応が異なるため、血漿中濃度の違いがモルヒネ投与後に異なる反応を示すことの主因である可能性は低いことが示唆された。さらに、モルヒネ投与により用量依存性に副作用である呼吸抑制や嘔吐が発現したが、猫ではモルヒネの血漿中濃度は犬よりも高いことが予測されるにも関わらず、これらの副作用は認められなかったため、犬と猫ではオピオイドの作用発現機序に大きな違いが存在することが示唆された。

また、猫ではフェンタニル投与により、一過性の活動性上昇が認められたのに対し、モルヒネ投与後には意識状態が変わらないままに不動化が認められた。馬では、 μ オピオイド受容体作動薬と κ オピオイド受容体作動薬では、ともに活動性の上昇が生じるものの、その効果は前者の方が後者よりも強いことが知られている (Mama et al., 1993)。フェンタニルは μ オピオイド受容体に選択的に親和性を持つが、モルヒネは μ オピオイド受容体だけでなく κ オピオイド受容体にも親和性を持つため、馬と同様の機構により、猫においてフェンタニルとモルヒネに対する反応に違いが生じる可能性も考えられたが、今後更なる検討が必要である。

今回の検討では、レミフェンタニルの薬物動態解析では、単回投与ではなく

短時間の持続投与を行った。これは人における消失半減期が極端に短く、単回投与では、投与後の血中濃度の検出および薬物動態解析が困難であると予想されたためである。また、薬物動態の評価にはコンパートメントモデルではなく、モーメント解析を使用した。モーメント解析はモデルを用いない解析法であり、薬物投与後の血中濃度推移がコンパートメントモデルなどに当てはまらない場合に有効である。今回、犬猫のレミフェンタニルの短時間持続投与の血中濃度の変移はコンパートメントモデルに当てはまらなかったため、本法を用いて解析を行った。これまでは、血中レミフェンタニル濃度を測定するための血液サンプルとして動脈血や静脈血が用いられており、統一性がなかったが、Kabbajらは、犬にレミフェンタニルを投与して脳波を計測し、動脈血中濃度よりも静脈血中濃度のほうが、効果部位濃度をより良く反映しているとする報告を行った (Kabbaj et al., 2005)。したがって、今回は血液サンプルとして静脈血を用いて薬物動態の解析を行った。

モーメント解析により求められる平均滞留時間 (MRT) は静脈内投与後に薬物が体内に滞留する平均時間を表す。また、モーメント解析により求められる定常状態分布容積は、血中濃度推移がコンパートメントモデルに良く当てはまった場合に算出される分布容積とよく一致することも知られている。

レミフェンタニルの短時間静脈内持続投与により、犬猫ともに血中濃度は投与開始直後から速やかに上昇し、投与を終了すると速やかに血中濃度は低下したが、血中濃度の推移は類似していた。しかし、持続投与終了時および投与終了20分後の濃度はそれぞれ、犬では 20ng/ml および 0.26ng/ml、猫では 5.9ng/ml および 0.02ng/ml であり、全測定点で犬の血中濃度が猫を上回った (図 3)。

レミフェンタニルの全身クリアランスは犬 (83mL/min/kg) よりも猫 (288mL/min/kg) の方が高く、平均滞留時間および半減期は犬 (5.2 分、6.1

分) よりも猫 (3.6 分、3.6 分) の方が短かった。レミフェンタニルは血液あるいは組織中の非特異的エステラーゼにより分解されるので採血部位により血中濃度が異なることが報告されているが、今回は犬も猫も頸静脈に留置したカテーテルから採取した静脈血サンプルを用いたため、採血部位による影響はないと考えられる。したがって、全身クリアランスの違いは、犬と猫における非特異的エステラーゼの活性や含有量によるものと考えられた。

レミフェンタニルを投与すると、犬と猫では異なる意識・行動の変化が観察された。すなわち、レミフェンタニルの血中濃度は全ての測定点で犬の方が猫よりも高かったが、犬では活動性が低下して鎮静状態となったのに対し、猫では活動性が上昇した。猫は活動性を上昇させたものの、興奮や攻撃的な反応は観察されず、第 2 章においてフェンタニルにより引き起こされた活動性の上昇と類似した行動変化が観察された。また、犬と猫における活動性の変化はレミフェンタニルの血中濃度の変化と関連性が認められた。

レミフェンタニルは、フェンタニルと同様に μ オピオイド受容体に対する特異性が高いことが知られており、作用時間そのものは異なるものの作用自体は類似性が高いと考えられる。フェンタニルとは異なり、犬のほうが血中濃度は高かったにも関わらず、犬と猫の反応の違いはフェンタニルと同様であった。この点から、薬物動態学の違いから、犬と猫にけるオピオイドに対する反応の違いを評価できる可能性は低いことが示唆された。

本章では、オピオイドに対する反応の違いを薬物動態の観点から検討するために、フェンタニル、モルヒネ、レミフェンタニルの 3 種類のオピオイドの薬物動態を犬と猫で比較した。フェンタニルやモルヒネの全身クリアランスは猫では犬の $1/2 \sim 1/3$ と低く、分布容積も $1/2$ 程度であるために、静脈内投与した場合には血中濃度が高くなりやすく、体内からも排泄されにくいことが明らか

となった。全身クリアランスが低い原因としては、①肝血漿流量が小さいこと、②代謝酵素の活性に差があることが主な原因であると考えられた。一方、レミフェンタニルに関してはフェンタニルやモルヒネとは逆に、全身クリアランスは猫では犬の約 3 倍高く、分布容積も約 2 倍高いため、静脈内投与した場合には血中濃度が低くなりやすく、体内からは排泄されやすいことが明らかとなった。薬物動態に違いが生じる要因として、血中の非特異的エステラーゼの活性や量に違いがある可能性が大きいことが考えられた。また、犬ではフェンタニルおよびモルヒネと同様にレミフェンタニル投与により活動性の低下がみられ、猫でもフェンタニルと同様にレミフェンタニルの投与により活動性の上昇がみられた。このことから、犬と猫においてオピオイドの血中濃度の高低は行動変化の違いには必ずしも結びついておらず、更なる検討が必要と考えられた。

犬と猫でオピオイドの作用に違いが生じる要因として、薬物動態以外に、オピオイド受容体の機能的な違いや、中枢神経系における局在性や分布の違い、受容体のオピオイドとの結合に対する機能的な違いが存在することが考えられる。今後、犬と猫の中枢神経系におけるオピオイド受容体の分布の比較、猫におけるオピオイド受容体の塩基配列の解明、オピオイド受容体の機能あるいは質的違いに関する検討を行うことが必要であると考えられた。

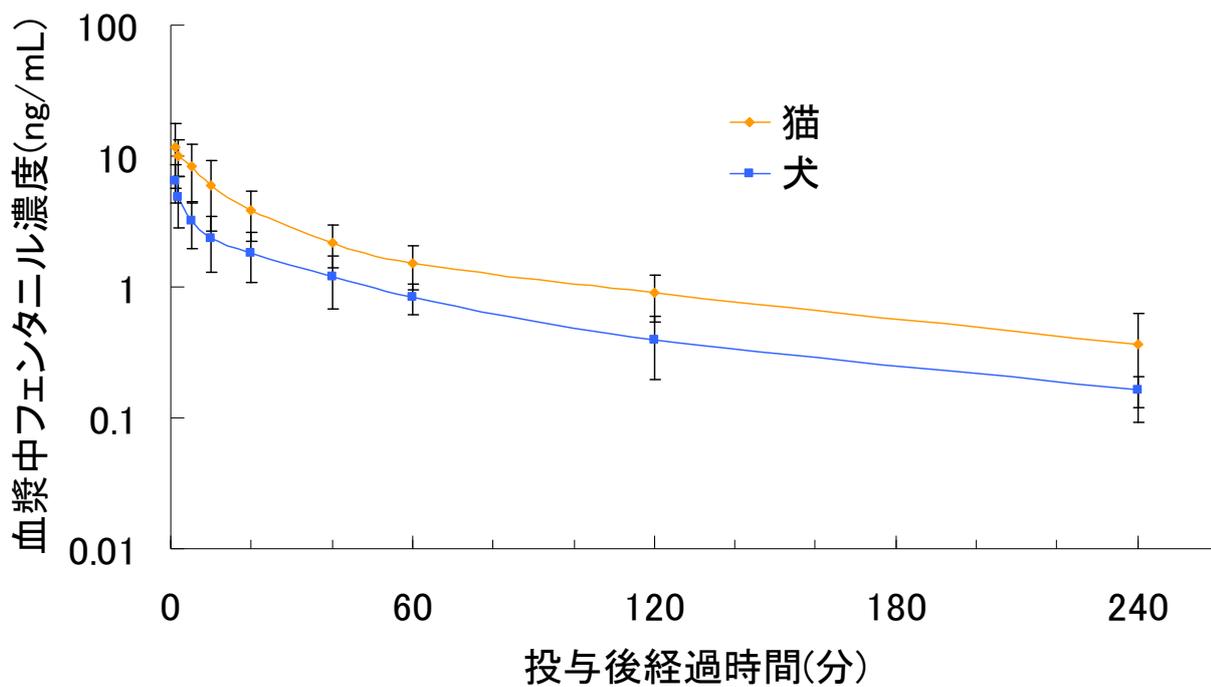


図 1 フェンタニル 10 μ g/kg 静脈内単回投与後の血漿中フェンタル濃度の変化

注) 平均値±標準偏差

表 1 フェンタニルの薬物動態パラメーター

パラメーター	犬	猫
A(ng/ml)	6.1 ± 2.1	8.6 ± 2.8
B(ng/ml)	2.5 ± 1.4	2.1 ± 1.1
α (/min)	0.41 ± 0.19	0.09 ± 0.03
β (/min)	0.01 ± 0.004	0.01 ± 0.002
$t_{1/2\alpha}$ (min)	2.1 ± 0.9	8.4 ± 2.4
$t_{1/2\beta}$ (min)	48.4 ± 10.7	82.5 ± 20.4
V_1 (mL/kg)	1354.7 ± 504.1	1044.5 ± 335.7
V_{ss} (mL/kg)	4135.4 ± 1628.7	2876.5 ± 1074.7
AUC(ng·min/mL)	165.9 ± 44.6	348.6 ± 140.6
CL_{tot} (mL/min/kg)	65.8 ± 19.7	34.1 ± 14.5
k_{12} (/min)	0.25 ± 0.157	0.04 ± 0.017
k_{21} (/min)	0.12 ± 0.043	0.02 ± 0.009
k_{el} (/min)	0.05 ± 0.01	0.03 ± 0.007

注) 平均値±標準偏差

A : 分布相におけるゼロ切片時間

B : 消失相におけるゼロ切片時間

α : 分布相定数

β : 消失相定数

$t_{1/2\alpha}$: 分布相半減期

$t_{1/2\beta}$: 消失相半減期

V_1 : 中心コンパートメント容積

V_{ss} : 定常状態分布容積

AUC : 血中濃度-時間曲線下面積

CL_{tot} : 全身クリアランス

k_{ij} : 微小速度定数

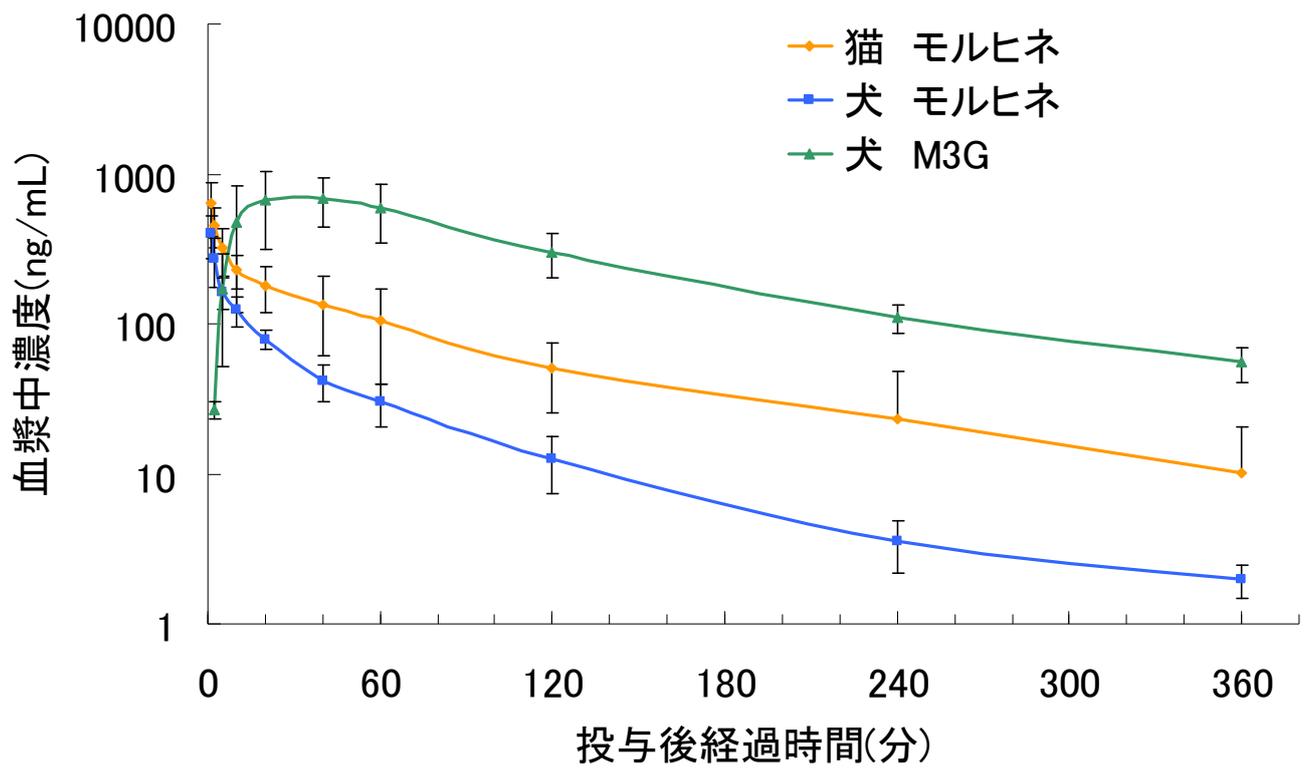


図 2 モルヒネ 0.6mg/kg 静脈内単回投与後の血漿中モルヒネ、M3G 濃度の
変化

注) 平均値±標準偏差

表 2 モルヒネの薬物動態パラメーター

パラメーター	犬	猫
A(ng/ml)	342.7 ± 175.3	500.5 ± 274.4
B(ng/ml)	54.5 ± 35.8	195.9 ± 114.8
α (/min)	0.14 ± 0.09	0.24 ± 0.13
β (/min)	0.01 ± 0.003	0.01 ± 0.003
$t_{1/2\alpha}$ (min)	7.4 ± 4.1	3.7 ± 1.5
$t_{1/2\beta}$ (min)	69.6 ± 23.3	81.1 ± 43.2
V_1 (mL/kg)	1922.6 ± 933.6	1023.9 ± 303.5
V_{ss} (mL/kg)	5279.8 ± 2476.1	2870.5 ± 805.7
AUC(ng·min/mL)	6545.2 ± 1669.6	20061.1 ± 9016.9
CL_{tot} (mL/min/kg)	96.2 ± 17.9	35.3 ± 12.3
k_{12} (/min)	0.07 ± 0.059	0.14 ± 0.09
k_{21} (/min)	0.03 ± 0.019	0.07 ± 0.04
k_{el} (/min)	0.05 ± 0.015	0.03 ± 0.009

注) 平均値±標準偏差

A : 分布相におけるゼロ切片時間

B : 消失相におけるゼロ切片時間

α : 分布相定数

β : 消失相定数

$t_{1/2\alpha}$: 分布相半減期

$t_{1/2\beta}$: 消失相半減期

V_1 : 中心コンパートメント容積

V_{ss} : 定常状態分布容積

AUC : 血中濃度-時間曲線下面積

CL_{tot} : 全身クリアランス

k_{ij} : 微小速度定数

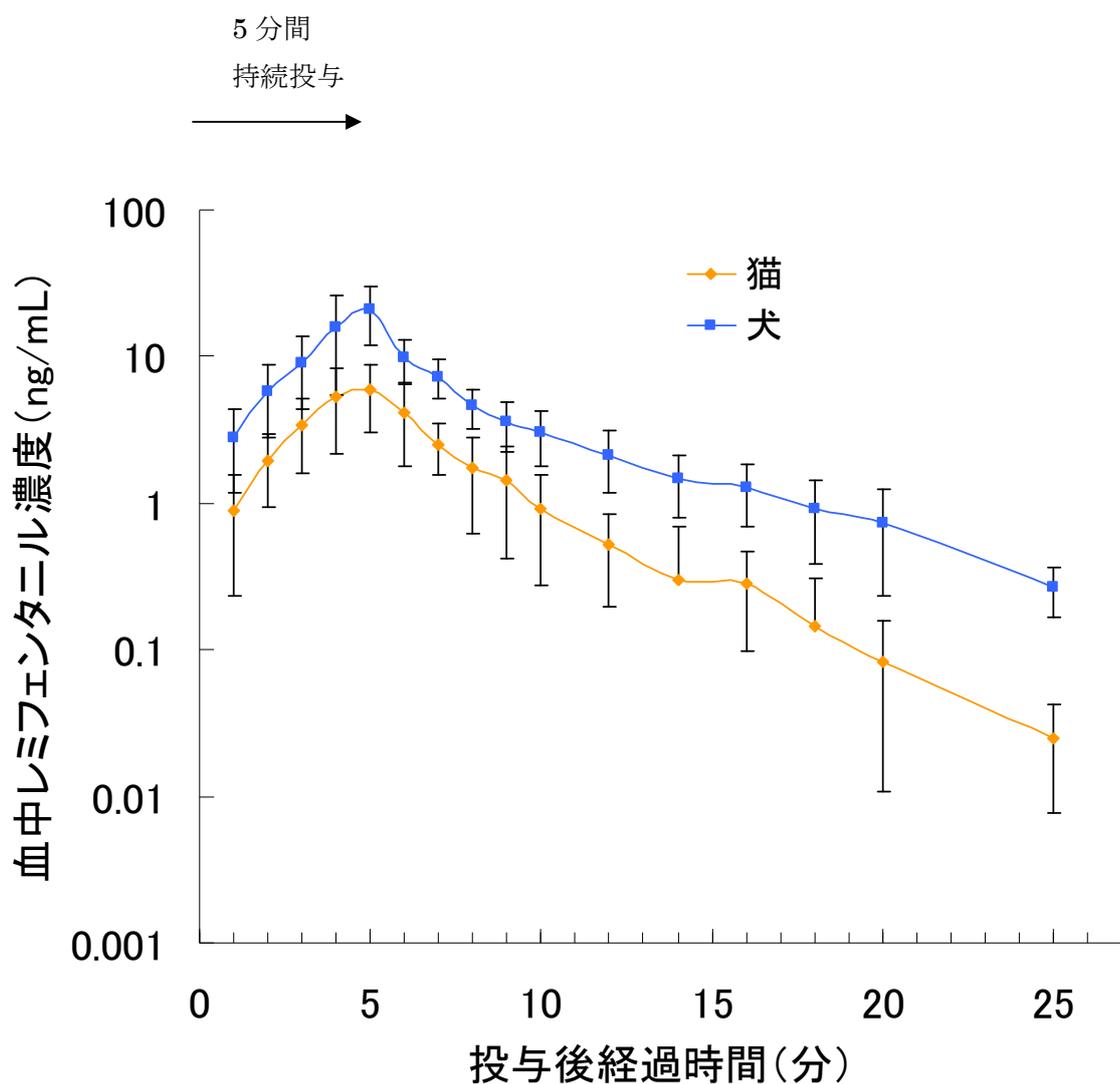


図 3 レミフェンタニル $1.5 \mu\text{g/kg/min}$ 静脈内持続投与後の血中レミフェンタニル濃度の変化

注) 平均値±標準偏差

表 3 レミフェンタニルの薬物動態パラメーター

パラメータ	犬	猫
AUC (ng · min/mL)	102.7 ± 37.5	31.6 ± 16.4
MRT (min)	5.2 ± 0.7	3.6 ± 0.3
t _{1/2} (min)	6.1 ± 1.7	3.6 ± 2.8
CL _{tot} (mL/min/kg)	82.7 ± 27.3	288.7 ± 103.7
V _{ss} (mL/kg)	437 ± 172	1008 ± 335

注) 平均値±標準偏差

AUC : 血中濃度-時間曲線下面積

MRT : 平均滞留時間

t_{1/2} : 半減期

CL_{tot} : 全身クリアランス

V_{ss} : 定状状態分布容積

第6章

総括

現在、日本では 2000 万頭近くの犬や猫が家庭で飼育されており、これらの犬や猫は伴侶動物として人との結びつきがより強くなっているため、獣医療における犬や猫の疼痛管理に対する関心や重要性は、非常に高くなってきている。痛みは生体防御に不可欠な機構であるが、過剰あるいは持続する痛みは大きな苦痛であるばかりでなく、生体に様々な負担をかけるため早期に適切な鎮痛処置を行うことが非常に重要となる。

オピオイドは、獣医療において最も広く使用される鎮痛薬である。末梢に加わった侵害刺激が中枢神経へ伝達されることにより痛みが生じるが、オピオイドは末梢および中枢神経における侵害刺激の伝達を遮断することで、非常に強力な鎮痛作用を発揮する。他方、オピオイドには鎮痛作用以外にも呼吸抑制や嘔吐などの副作用があり、その作用には大きな個体差あるいは動物種差があることが知られている。とくに猫では、オピオイドの興奮作用に対する懸念が強いため、臨床では積極的な使用が避けられる傾向が強いが、その根拠は曖昧であり、明確な情報がほとんどないのが現状である。

本研究では先ず第2章で、オピオイドが犬や猫の意識や行動に与える影響を検討した。モルヒネ (0.3、0.6、1.2、2.4mg/kg) を静脈内投与すると、犬では用量依存性に活動性の低下が認められ、高用量では腹臥位や横臥位になり意識レベルの低下も認められた。さらに、用量依存性に呼吸抑制や嘔吐が発現した。一方、猫では意識レベルの低下を伴わない不動化が認められ、呼吸抑制や嘔吐は生じなかった。また、猫では何れの用量においても“opioid

mania”と呼ばれるような興奮や攻撃的反応は観察されなかった。フェンタニル（5、10、20、40 μ g/kg）を静脈内投与すると、犬では用量依存性に活動性の低下が認められ、高用量では腹臥位や横臥位になり意識レベルが低下する個体も認められた。また、用量依存性にチアノーゼを伴う重度の呼吸抑制が発現したが、嘔吐は発現しなかった。対して、猫では高用量のフェンタニルにより、一過性に活動性が上昇したものの、興奮や攻撃的反応は生じなかった。また、呼吸抑制や嘔吐は認められなかった。以上の結果から、オピオイドは犬に対して、意識レベルや活動性を用量依存性に強く低下させ、呼吸抑制や嘔吐などの副作用をもたらすのに対し、猫に対しては活動性に影響を与えるもの、意識レベルを低下させることはなく、明らかな呼吸抑制や嘔吐などの副作用も生じないことが明らかとなった。比較的高用量のオピオイドを猫に投与しても、過去に報告された“opioid mania”と呼ばれるような興奮作用や攻撃的反応は観察されなかったため、侵害刺激遮断作用について検討する必要があるものの、今後の獣医療において猫に対するオピオイドの積極的な使用、および疼痛管理の改善につながることを期待された。

続いて第3章では、犬と猫における侵害刺激遮断作用の比較を行った。フェンタニルの持続投与（5、10、20、40、80 μ g/kg/hr）が吸入麻酔薬イソフルランの MAC-BAR : MAC-blocking adrenergic responses（侵害刺激による心拍数と血圧の上昇を抑制する最小濃度）に与える影響を犬と猫で比較し、MAC-BAR の低下率から相対的な侵害刺激遮断作用の評価を試みた。犬では、イソフルランの MAC-BAR はフェンタニルの血中濃度依存性に約 75%まで低下し、天井効果に達した。一方、猫では約 38%までしか低下せず、天井効果に達した。フェンタニルが侵害刺激の末梢から中枢への伝達を阻害して、心拍数や血圧の上昇といった自律神経系の反応を抑制することにより、

MAC-BAR が低下すると考えられることから、猫におけるフェンタニルの侵害刺激遮断作用は、犬に比べて弱い可能性が示された。また、猫では血漿中濃度を上昇させても犬と同程度の効果が得られないことから、オピオイドの作用には質的な違いがあることも示唆された。

また、第 4 章では神経内分泌反応を指標として、実際の手術症例における侵害刺激遮断作用の比較を行った。イソフルランとフェンタニルの持続投与を併用した麻酔下で、様々な手術を実施した犬と猫において、血中コルチゾール濃度、血糖値、心拍数、血圧の変動を比較検討した。犬では、術中の血中コルチゾール濃度、血糖値、心拍数、血圧は大きな変動がなく、安定していたため、フェンタニルの併用により、手術による侵害刺激の伝達を十分に抑制できたと考えられた。一方、猫では、術中の血中コルチゾール濃度は安定していたが、血糖値は手術開始時より上昇を続けた。また、血圧と心拍数は手術開始時より上昇し、心拍数は大きく上昇する個体が多かった。以上の結果から、猫では手術刺激による神経内分泌反応をフェンタニルの投与により十分には抑制できないことが示唆された。フェンタニルの侵害刺激遮断作用が猫では弱いことが示唆されたため、猫の手術においてはオピオイド以外にも、鎮痛作用を持つ薬剤を併用することが望ましいことも示唆された。

第 2~4 章の結果から、犬と猫におけるオピオイドの中枢神経作用に明確な違いが認められたため、第 5 章で、オピオイドの中枢神経作用に種差が生じる要因を明らかにする目的で、薬物動態学の観点から検討を行った。健康な犬と猫にモルヒネ (0.6mg/kg)、フェンタニル (10 μ g/kg)、最近臨床応用の始まったレミフェンタニル (1.5 μ g/kg/min、5 分間持続投与) を投与して薬物動態を検討した。モルヒネ投与後の血中濃度は、常に猫では犬よりも高い濃度を維持し、全身クリアランスは犬で 96mL/min/kg、猫で 35mL/min/kg

であり、半減期は犬 70 分に対して猫 81 分であった。一方、モルヒネの代謝産物 (M3G、M6G) は犬では M3G が検出されたが M6G は検出されず、猫では M3G、M6G とともに検出されなかった。犬における M3G の作用や猫におけるモルヒネの代謝系路に関しては今後、検討が必要である。フェンタニル投与後の血中濃度は、猫では犬よりも常に高い濃度を維持し、全身クリアランスは犬 65mL/min/kg、猫 35mL/min/kg であり、半減期は犬で 48 分、猫で 83 分であった。レミフェンタニル投与中および投与後、猫の血中濃度は常に犬よりも低い濃度で推移し、全身クリアランスは猫で 289mL/min/kg、犬で 83mL/min/kg であり、半減期は猫で 3.6 分、犬では 6.1 分であった。レミフェンタニル投与後、犬の活動性は低下したが、猫の活動性は一過性に上昇し、活動性の変化と血中濃度の変化には関連性がみられた。モルヒネとフェンタニルは主に肝臓で代謝されることから薬物動態の違いは、肝血漿流量の違い、薬物代謝酵素の活性あるいは量や種類の違いにより生じることが考えられた。一方、レミフェンタニルは血中の非特異的エステラーゼにより代謝されるため、血中の非特異的エステラーゼの活性や含有量に違いがあり、薬物動態に違いが生じた可能性が示唆された。また、犬と猫におけるモルヒネ、フェンタニル投与後の意識状態および行動変化の違いと血中濃度の違いから、血中濃度そのものの高さが中枢神経作用の種差にある程度影響することが示唆されたが、レミフェンタニル投与後に観察された犬と猫における反応の違いからは、血中濃度以外に作用の種差に影響する要因がある可能性が示唆された。

以上より、犬と猫におけるオピオイドの作用のうち、意識や行動におよぼす作用や侵害刺激遮断作用といった中枢神経作用、あるいは呼吸抑制や嘔吐などの作用に、大きく違いがあることが明らかとなった。オピオイドは、犬

では十分な侵害刺激遮断作用と鎮静作用を発揮するが、同時に用量依存性に呼吸抑制や嘔吐などの副作用をもたらすことが明らかとなった。一方、猫では、オピオイドの侵害刺激遮断作用は弱い、呼吸抑制や嘔吐など副作用の危険性も低いことが明らかとなった。また、副作用のうち最も懸念されていた興奮作用や攻撃反応は、本検討で用いた臨床用量、あるいは臨床用量を超過する用量においても認められなかった。今後、更に検討を進めることで、猫に対するオピオイドの積極的な使用、および他の鎮痛薬との組み合わせることにより疼痛管理の改善につながることが期待される。また、犬と猫における中枢神経作用の違いには、薬物動態の違いが一部関係している可能性が示唆されたが、その他の要因も大きいと考えられた。今後さらに、中枢神経作用に種差が生じる機構を理解し、犬と猫におけるオピオイドの有効利用に繋げるためには、中枢神経系におけるオピオイド受容体の分布、オピオイド受容体の機能などについても比較検討を加える必要があると考えられた。

謝辞

本研究を実施する機会を与えて頂き、研究の遂行および論文の作成にあたり、終始懇切なるご指導ご鞭撻を賜りました、東京大学大学院 農学生命科学研究科 高度医療科学研究室 西村亮平 教授に心より感謝いたします。

本研究を遂行するにあたり、多大なご協力を頂きました、東京大学大学院 農学生命科学研究科 獣医外科学研究室 佐々木伸雄 教授に深く感謝いたします。

血中薬物濃度の測定にあたり、多大なご協力、ご指導を頂きました、慶応義塾大学薬学部 大学院薬学研究科 創薬物理化学講座 金沢秀子 教授、ならびに西尾忠 助教に深謝いたします。

本研究を進めるにあたり、ご助言、ご支援を頂いた、東京大学大学院 農学生命科学研究科 獣医外科学研究室 中川貴之 助教、ならびに高度医療科学研究室 農学特任研究員 藤田直己 先生に心からお礼申し上げます。

研究生活を送るにあたり、激励、ご援助、ご協力頂きました、東京大学附属動物医療センター 特任助教 越後良介 先生、非常勤獣医師 加藤久美子 先生、特任助教 都築圭子 先生に心から感謝いたします。

研究を進めるにあたり、度々のご助言を頂き、議論に参加して頂いた、東京大学附属動物医療センター 特任助教 長濱正太郎 先生、高度医療科学研究室 柿寫圭 君、ならびに実験の手伝いをしてくれた高度医療科学研究室 飯塚智也 君に深く感謝いたします。

最後に、本研究に取り組むにあたり、ご援助を頂きました、東京大学大学院 農学生命科学研究科 高度医療科学研究室の皆様、獣医外科学研究室の皆様、附属動物医療センターの皆様、慶応義塾大学薬学部 大学院薬学研究科 創薬物理化学講座の皆様、そして家族、友人に心より感謝申し上げます。

参考文献

- Albertin A, Casati A, Bergonzi P, et al: Effects of two target-controlled concentrations (1 and 3 ng/ml) of remifentanil on MAC(BAR) of sevoflurane. *Anesthesiology* 100:255-259, 2004
- Albertin A, Dedola E, Bergonzi PC, et al: The effect of adding two target-controlled concentrations (1-3 ng mL⁻¹) of remifentanil on MAC BAR of desflurane. *Eur J Anaesthesiol* 23:510-516, 2006
- Anand KJ, Hansen DD, Hickey PR: Hormonal-metabolic stress responses in neonates undergoing cardiac surgery. *Anesthesiology* 73:661-670, 1990
- Antognini JF, Schwartz K: Exaggerated anesthetic requirements in the preferentially anesthetized brain. *Anesthesiology* 79:1244-1249, 1993
- Aubrun F, Bunge D, Langeron O, et al: Postoperative morphine consumption in the elderly patient. *Anesthesiology* 99:160-165, 2003
- Basbaum AI, Fields HL: The origin of descending pathways in the dorsolateral funiculus of the spinal cord of the cat and rat: further studies on the anatomy of pain modulation. *J Comp Neurol* 187:513-531, 1979
- Benson GJ, Grubb TL, Neff-Davis C, et al: Perioperative stress response in the dog: effect of pre-emptive administration of medetomidine. *Vet Surg* 29:85-91, 2000
- Bond C, LaForge KS, Tian M, et al: Single-nucleotide polymorphism in the human mu opioid receptor gene alters beta-endorphin binding and activity: possible implications for opiate addiction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:9608-9613, 1998
- Boxenbaum H: Interspecies variation in liver weight, hepatic blood flow, and antipyrine intrinsic clearance: extrapolation of data to benzodiazepines and phenytoin. *J Pharmacokinet Biopharm* 8:165-176, 1980

- Capner CA, Lascelles BD, Waterman-Pearson AE: Current British veterinary attitudes to perioperative analgesia for dogs. *Vet Rec* 145:95-99, 1999
- Chen Y, Mestek A, Liu J, et al: Molecular cloning and functional expression of a mu-opioid receptor from rat brain. *Mol Pharmacol* 44:8-12, 1993
- Chou WY, Wang CH, Liu PH, et al: Human opioid receptor A118G polymorphism affects intravenous patient-controlled analgesia morphine consumption after total abdominal hysterectomy. *Anesthesiology* 105:334-337, 2006
- Clarke RS: The hyperglycaemic response to different types of surgery and anaesthesia. *Br J Anaesth* 42:45-53, 1970
- Cortright DN, Szallasi A: TRP channels and pain. *Curr Pharm Des* 15:1736-1749, 2009
- Dhasmana KM, Dixit KS, Jaju BP, et al: Role of central dopaminergic receptors in manic response of cats to morphine. *Psychopharmacologia* 24:380-383, 1972
- Daniel M, Weiskopf RB, Noorani M, et al: Fentanyl augments the blockade of the sympathetic response to incision (MAC-BAR) produced by desflurane and isoflurane: desflurane and isoflurane MAC-BAR without and with fentanyl. *Anesthesiology* 88:43-49, 1998
- de Castro J, Andrieu S, Clerckx A: The use of almitrine following potentialized analgesic. Anaesthesia based upon alfentanil and flunitrazepam or etomidate. *Acta Anaesthesiol Belg* 30 Suppl:135-149, 1979
- Dohoo SE, Dohoo IR: Attitudes and concerns of Canadian animal health technologists toward postoperative pain management in dogs and cats. *Can Vet J* 39:491-496, 1998
- Dray A, Nunan L: Supraspinal and spinal mechanisms in morphine-induced inhibition of reflex urinary bladder contractions in the rat. *Neuroscience* 22:281-287, 1987

- Egan TD, Lemmens HJ, Fiset P, et al: The pharmacokinetics of the new short-acting opioid remifentanyl (GI87084B) in healthy adult male volunteers. *Anesthesiology* 79:881-892, 1993
- Evans CJ, Keith DE, Jr., Morrison H, et al: Cloning of a delta opioid receptor by functional expression. *Science* 258:1952-1955, 1992
- Faura CC, Collins SL, Moore RA, et al: Systematic review of factors affecting the ratios of morphine and its major metabolites. *Pain* 74:43-53, 1998
- Feierman DE: Identification of cytochrome P450 3A1/2 as the major P450 isoform responsible for the metabolism of fentanyl by rat liver microsomes. *Anesth Analg* 82:936-941, 1996
- Feringa HH, Bax JJ, Boersma E, et al: High-dose beta-blockers and tight heart rate control reduce myocardial ischemia and troponin T release in vascular surgery patients. *Circulation* 114:I344-349, 2006
- Fox SM, Mellor DJ, Firth EC, et al: Changes in plasma cortisol concentrations before, during and after analgesia, anaesthesia and anaesthesia plus ovariohysterectomy in bitches. *Res Vet Sci* 57:110-118, 1994
- Fox SM, Mellor DJ, Lawoko CR, et al: Changes in plasma cortisol concentrations in bitches in response to different combinations of halothane and butorphanol, with or without ovariohysterectomy. *Res Vet Sci* 65:125-133, 1998
- Gilbert PE, Martin WR: The effects of morphine and nalorphine-like drugs in the nondependent, morphine-dependent and cyclazocine-dependent chronic spinal dog. *J Pharmacol Exp Ther* 198:66-82, 1976
- Glerum LE, Egger CM, Allen SW, et al: Analgesic effect of the transdermal fentanyl patch during and after feline ovariohysterectomy. *Vet Surg* 30:351-358, 2001

- Grandy JL, Heath RB: Cardiopulmonary and behavioral effects of fentanyl-droperidol in cats. *J Am Vet Med Assoc* 191:59-61, 1987
- Gruber EM, Laussen PC, Casta A, et al: Stress response in infants undergoing cardiac surgery: a randomized study of fentanyl bolus, fentanyl infusion, and fentanyl-midazolam infusion. *Anesth Analg* 92:882-890, 2001
- Halter JB, Pflug AE: Effects of anesthesia and surgical stress on insulin secretion in man. *Metabolism* 29:1124-1127, 1980
- Hashimoto K, Amano T, Kasakura A, et al: mu-Opioid receptor-independent fashion of the suppression of sodium currents by mu-opioid analgesics in thalamic neurons. *Neurosci Lett* 453:62-67, 2009
- Heard DJ, Webb AI, Daniels RT: Effect of acepromazine on the anesthetic requirement of halothane in the dog. *Am J Vet Res* 47:2113-2115, 1986
- Hellyer PW, Bai L, Supon J, et al: Comparison of opioid and alpha-2 adrenergic receptor binding in horse and dog brain using radioligand autoradiography. *Vet Anaesth Analg* 30:172-182, 2003
- Henry JL: Concepts of pain sensation and its modulation. *J Rheumatol Suppl* 19:104-112, 1989
- Hughes J, Smith TW, Kosterlitz HW, et al: Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. *Nature* 258:577-580, 1975
- Hugonnard M, Leblond A, Keroack S, et al: Attitudes and concerns of French veterinarians towards pain and analgesia in dogs and cats. *Vet Anaesth Analg* 31:154-163, 2004

- James MK, Feldman PL, Schuster SV, et al: Opioid receptor activity of GI 87084B, a novel ultra-short acting analgesic, in isolated tissues. *J Pharmacol Exp Ther* 259:712-718, 1991
- Janssen PA, Niemegeers CJ, Dony JG: The inhibitory effect of fentanyl and other morphine-like analgesics on the warm water induced tail withdrawal reflex in rats. *Arzneimittelforschung* 13:502-507, 1963
- Joel E, Arndts F: Beitrage zur Pharmakologie der Koperstellung und der Labyrinthreflexe. XIX mittelung: Morphin *Arch Gesund Physio* 210, 280-283, 1925
- Kabbaj M, Vachon P, Varin F: Impact of peripheral elimination on the concentration-effect relationship of remifentanal in anaesthetized dogs. *Br J Anaesth* 94:357-365, 2005
- Katoh T, Kobayashi S, Suzuki A, et al: The effect of fentanyl on sevoflurane requirements for somatic and sympathetic responses to surgical incision. *Anesthesiology* 90:398-405, 1999
- Katoh T, Kobayashi S, Suzuki A, et al: Fentanyl augments block of sympathetic responses to skin incision during sevoflurane anaesthesia in children. *Br J Anaesth* 84:63-66, 2000
- Kissin I: A concept for assessing interactions of general anesthetics. *Anesth Analg* 85:204-210, 1997
- KuKanich B, Lascelles BD, Papich MG: Pharmacokinetics of morphine and plasma concentrations of morphine-6-glucuronide following morphine administration to dogs. *J Vet Pharmacol Ther* 28:371-376, 2005

- Labroo RB, Paine MF, Thummel KE, et al: Fentanyl metabolism by human hepatic and intestinal cytochrome P450 3A4: implications for interindividual variability in disposition, efficacy, and drug interactions. *Drug Metab Dispos* 25:1072-1080, 1997
- Laroute V, Lefebvre HP, Costes G, et al: Measurement of glomerular filtration rate and effective renal plasma flow in the conscious beagle dog by single intravenous bolus of iohexol and p-aminohippuric acid. *J Pharmacol Toxicol Methods* 41:17-25, 1999
- Lascelles BDX, Capner CA, Waterman-Pearson AE: Current British veterinary attitudes to perioperative analgesia for cats and small mammals. *Vet Rec* 145:601-604, 1999
- Latremoliere A, Woolf CJ: Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity. *J Pain* 10:895-926, 2009
- Lautt WW, Legare DJ: Evaluation of hepatic venous resistance responses using index of contractility. *Am J Physiol* 262:G510-516, 1992
- Lee DD, Papich MG, Hardie EM: Comparison of pharmacokinetics of fentanyl after intravenous and transdermal administration in cats. *Am J Vet Res* 61:672-677, 2000
- Liehmman L, Mosing M, Auer U: A comparison of cardiorespiratory variables during isoflurane-fentanyl and propofol-fentanyl anaesthesia for surgery in injured cats. *Vet Anaesth Analg* 33:158-168, 2006
- Lin SN, Wang TP, Caprioli RM, et al: Determination of plasma fentanyl by GC-mass spectrometry and pharmacokinetic analysis. *J Pharm Sci* 70:1276-1279, 1981

- Liu M, Hu X, Liu J: The effect of hypothermia on isoflurane MAC in children. *Anesthesiology* 94:429-432, 2001
- Locatelli V, Bresciani E, Tamiazzo L, et al: Central nervous system-acting drugs influencing hypothalamic-pituitary-adrenal axis function. *Endocr Dev* 17:108-120,
- Lowenstein E, Hallowell P, Levine FH, et al: Cardiovascular response to large doses of intravenous morphine in man. *N Engl J Med* 281:1389-1393, 1969
- Mabuchi M, Takatsuka S, Matsuoka M, et al: Determination of morphine, morphine-3-glucuronide and morphine-6-glucuronide in monkey and dog plasma by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal* 35:563-573, 2004
- Mama KR, Pascoe PJ, Steffey EP: Evaluation of the interaction of mu and kappa opioid agonists on locomotor behavior in the horse. *Can J Vet Res* 57:106-109, 1993
- March PA, Muir WW, 3rd: Minimum alveolar concentration measures of central nervous system activation in cats anesthetized with isoflurane. *Am J Vet Res* 64:1528-1533, 2003
- Mathew PJ, Puri GD, Dhaliwal RS: Propofol requirement titrated to bispectral index: a comparison between hypothermic and normothermic cardiopulmonary bypass. *Perfusion* 24:27-32, 2009
- Mazoit JX, Sandouk P, Scherrmann JM, et al: Extrahepatic metabolism of morphine occurs in humans. *Clin Pharmacol Ther* 48:613-618, 1990
- McClain DA, Hug CC, Jr.: Intravenous fentanyl kinetics. *Clin Pharmacol Ther* 28:106-114, 1980

- McClellan JM, Goldstein RE, Erb HN, et al: Effects of administration of fluids and diuretics on glomerular filtration rate, renal blood flow, and urine output in healthy awake cats. *Am J Vet Res* 67:715-722, 2006
- McEwan AI, Smith C, Dyar O, et al: Isoflurane minimum alveolar concentration reduction by fentanyl. *Anesthesiology* 78:864-869, 1993
- Melzack R, Wall PD: Pain mechanisms: a new theory. *Science* 150:971-979, 1965
- Miaskowski C, Sutters KA, Taiwo YO, et al: Antinociceptive and motor effects of delta/mu and kappa/mu combinations of intrathecal opioid agonists. *Pain* 49:137-144, 1992
- Minami M, Satoh M: Molecular biology of the opioid receptors: structures, functions and distributions. *Neurosci Res* 23:121-145, 1995
- Mutoh T, Nishimura R, Kim HY, et al: Cardiopulmonary effects of sevoflurane, compared with halothane, enflurane, and isoflurane, in dogs. *Am J Vet Res* 58:885-890, 1997
- Nishizawa D, Han W, Hasegawa J, et al: Association of mu-opioid receptor gene polymorphism A118G with alcohol dependence in a Japanese population. *Neuropsychobiology* 53:137-141, 2006
- Pain terms: a list with definitions and notes on usage. Recommended by the IASP Subcommittee on Taxonomy. *Pain* 6:249, 1979
- Pert CB, Snyder SH: Opiate receptor: demonstration in nervous tissue. *Science* 179:1011-1014, 1973
- Philbin DM, Coggins CH: Plasma antidiuretic hormone levels in cardiac surgical patients during morphine and halothane anesthesia. *Anesthesiology* 49:95-98, 1978

- Plum CD: Morphine sulfate. In: Plumb's Veterinary Drug Handbook, 6th ed. Blackwell Publishing, Iowa. pp. 632–635, 2008
- Plum CD: Fentanyl. In: Plumb's Veterinary Drug Handbook, 6th ed. Blackwell Publishing, Iowa., pp. 379–382, 2008
- Portenoy RK, Foley KM, Stulman J, et al: Plasma morphine and morphine-6-glucuronide during chronic morphine therapy for cancer pain: plasma profiles, steady-state concentrations and the consequences of renal failure. *Pain* 47:13-19, 1991
- Reier CE, George JM, Kilman JW: Cortisol and growth hormone response to surgical stress during morphine anesthesia. *Anesth Analg* 52:1003-1010, 1973
- Roizen MF, Horrigan RW, Frazer BM: Anesthetic doses blocking adrenergic (stress) and cardiovascular responses to incision--MAC BAR. *Anesthesiology* 54:390-398, 1981
- Rampil IJ, Laster MJ: No correlation between quantitative electroencephalographic measurements and movement response to noxious stimuli during isoflurane anesthesia in rats. *Anesthesiology* 77:920-925, 1992
- Rampil IJ, Mason P, Singh H: Anesthetic potency (MAC) is independent of forebrain structures in the rat. *Anesthesiology* 78:707-712, 1993
- Rampil IJ, King BS: Volatile anesthetics depress spinal motor neurons. *Anesthesiology* 85:129-134, 1996
- Robertson SA, Taylor PM: Pain management in cats--past, present and future. Part 2. Treatment of pain--clinical pharmacology. *J Feline Med Surg* 6:321-333, 2004

- Sano T, Nishimura R, Kanazawa H, et al: Pharmacokinetics of fentanyl after single intravenous injection and constant rate infusion in dogs. *Vet Anaesth Analg* 33:266-273, 2006
- Sebel PS, Lang E, Rampil IJ, et al: A multicenter study of bispectral electroencephalogram analysis for monitoring anesthetic effect. *Anesth Analg* 84:891-899, 1997
- Segawa H, Mori K, Murakawa M, et al: Isoflurane and sevoflurane augment norepinephrine responses to surgical noxious stimulation in humans. *Anesthesiology* 89:1407-1413, 1998
- Shah SS, Sanda S, Regmi NL, et al: Characterization of cytochrome P450-mediated drug metabolism in cats. *J Vet Pharmacol Ther* 30:422-428, 2007
- Shimomura K, Kamata O, Ueki S, et al: Analgesic effect of morphine glucuronides. *Tohoku J Exp Med* 105:45-52, 1971
- Sia AT, Lim Y, Lim EC, et al: A118G single nucleotide polymorphism of human mu-opioid receptor gene influences pain perception and patient-controlled intravenous morphine consumption after intrathecal morphine for postcesarean analgesia. *Anesthesiology* 109:520-526, 2008
- Simantov R, Snyder SH: Morphine-like peptides in mammalian brain: isolation, structure elucidation, and interactions with the opiate receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 73:2515-2519, 1976
- Simon EJ, Hiller JM, Edelman I: Stereospecific binding of the potent narcotic analgesic (3H) Etorphine to rat-brain homogenate. *Proc Natl Acad Sci U S A* 70:1947-1949, 1973

- Smith JD, Allen SW, Quandt JE: Changes in cortisol concentration in response to stress and postoperative pain in client-owned cats and correlation with objective clinical variables. *Am J Vet Res* 60:432-436, 1999
- Stamer UM, Lehnen K, Hothker F, et al: Impact of CYP2D6 genotype on postoperative tramadol analgesia. *Pain* 105:231-238, 2003
- Stanley TH, Webster LR: Anesthetic requirements and cardiovascular effects of fentanyl-oxygen and fentanyl-diazepam-oxygen anesthesia in man. *Anesth Analg* 57:411-416, 1978
- Steagall PV, Teixeira Neto FJ, Minto BW, et al: Evaluation of the isoflurane-sparing effects of lidocaine and fentanyl during surgery in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 229:522-527, 2006
- Steffey EP, Howland D, Jr.: Isoflurane potency in the dog and cat. *Am J Vet Res* 38:1833-1836, 1977
- Stein C, Clark JD, Oh U, et al: Peripheral mechanisms of pain and analgesia. *Brain Res Rev* 60:90-113, 2009
- Stein C, Lang LJ: Peripheral mechanisms of opioid analgesia. *Curr Opin Pharmacol* 9:3-8, 2009
- Stone JG, Foex P, Sear JW, et al: Risk of myocardial ischaemia during anaesthesia in treated and untreated hypertensive patients. *Br J Anaesth* 61:675-679, 1988
- Sutters KA, Miaskowski C, Taiwo YO, et al: Analgesic synergy and improved motor function produced by combinations of mu-delta- and mu-kappa-opioids. *Brain Res* 530:290-294, 1990
- Taylor PM, Robertson SA, Dixon MJ, et al: Morphine, pethidine and buprenorphine disposition in the cat. *J Vet Pharmacol Ther* 24:391-398, 2001

- Terenius L: Stereospecific interaction between narcotic analgesics and a synaptic plasma membrane fraction of rat cerebral cortex. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)* 32:317-320, 1973
- Ueyama Y, Lerche P, Eppler CM, et al: Effects of intravenous administration of perzinfotel, fentanyl, and a combination of both drugs on the minimum alveolar concentration of isoflurane in dogs. *Am J Vet Res* 70:1459-1464, 2009
- Valverde A, Morey TE, Hernandez J, et al: Validation of several types of noxious stimuli for use in determining the minimum alveolar concentration for inhalation anesthetics in dogs and rabbits. *Am J Vet Res* 64:957-962, 2003
- Wagner JG: A safe method for rapidly achieving plasma concentration plateaus. *Clin Pharmacol Ther* 16:691-700, 1974
- Wilson J, Doherty TJ, Egger CM, et al: Effects of intravenous lidocaine, ketamine, and the combination on the minimum alveolar concentration of sevoflurane in dogs. *Vet Anaesth Analg* 35:289-296, 2008
- Wolff T, Samuelsson H, Hedner T: Morphine and morphine metabolite concentrations in cerebrospinal fluid and plasma in cancer pain patients after slow-release oral morphine administration. *Pain* 62:147-154, 1995
- Woodbridge PD: Changing concepts concerning depth of anesthesia. *Anesthesiology* 18:536-550, 1957
- Yamashita K, Okano Y, Yamashita M, et al: Effects of carprofen and meloxicam with or without butorphanol on the minimum alveolar concentration of sevoflurane in dogs. *J Vet Med Sci* 70:29-35, 2008

- Yasuda K, Raynor K, Kong H, et al: Cloning and functional comparison of kappa and delta opioid receptors from mouse brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:6736-6740, 1993
- Yasuda N, Weiskopf RB, Cahalan MK, et al: Does desflurane modify circulatory responses to stimulation in humans? *Anesth Analg* 73:175-179, 1991
- Yeager MP, Glass DD, Neff RK, et al: Epidural anesthesia and analgesia in high-risk surgical patients. *Anesthesiology* 66:729-736, 1987
- Zbinden AM, Petersen-Felix S, Thomson DA: Anesthetic depth defined using multiple noxious stimuli during isoflurane/oxygen anesthesia. II. Hemodynamic responses. *Anesthesiology* 80:261-267, 1994