

ウサギにおけるアルファキサロンを
用いた新たな鎮静麻醉法の検討

酪農学園大学大学院

獣医学研究科

獣医学専攻博士課程

石川友駿

伴侶動物医療学 獣医麻醉学

指導教員 教授 山下和人

2019 年度

目 次

| | 頁 |
|--|----|
| 凡 例 | 3 |
| 緒 言 | 4 |
| 第一章 ウサギにおける低用量アルファキサロンの筋肉内投与による薬力学的効果 | |
| 1.1 小 緒 | 7 |
| 1.2 材料および方法 | 8 |
| 1.2.1 供試ウサギ | |
| 1.2.2 実験プロトコール | |
| 1.2.3 鎮静状態の評価 | |
| 1.2.4 呼吸循環機能の測定項目 | |
| 1.2.5 統計学的分析 | |
| 1.3 成 績 | 11 |
| 1.3.1 薬物投与実験における供試ウサギの状態 | |
| 1.3.2 鎮静状態の変化 | |
| 1.3.3 呼吸循環機能測定項目の変化 | |
| 1.3.4 有害事象の発生状況 | |
| 1.4 考 察 | 17 |
| 1.5 小 括 | 21 |
| 第二章 ウサギにおけるアルファキサロンの筋肉内投与、皮下投与、および経鼻投与 による薬力学的効果の比較 | |
| 2.1 小 緒 | 23 |
| 2.2 材料および方法 | 24 |
| 2.2.1 供試ウサギ | |
| 2.2.2 実験プロトコール | |
| 2.2.3 鎮静状態の評価 | |
| 2.2.4 呼吸循環機能の測定項目 | |
| 2.2.5 統計学的分析 | |

| | |
|--------------------------------------|----|
| 2.3 成績 | 26 |
| 2.3.1 薬物投与実験における供試ウサギの状態 | |
| 2.3.2 鎮静状態の変化 | |
| 2.3.3 呼吸循環機能測定項目の変化 | |
| 2.3.4 有害事象の発生状況 | |
| 2.4 考察 | 31 |
| 2.5 小括 | 35 |
| 第三章 ウサギにおける低用量アルファキサロンの経鼻投与による薬力学的効果 | |
| 3.1 小緒 | 36 |
| 3.2 材料および方法 | 37 |
| 3.2.1 供試ウサギ | |
| 3.2.2 実験プロトコール | |
| 3.2.3 鎮静状態の評価 | |
| 3.2.4 呼吸循環機能の評価 | |
| 3.2.5 統計学的分析 | |
| 3.3 成績 | 39 |
| 3.3.1 鎮静状態の変化 | |
| 3.3.2 呼吸循環機能測定項目の変化 | |
| 3.3.3 有害事象の発生状況 | |
| 3.4 考察 | 44 |
| 3.5 小括 | 48 |
| 総括 | 50 |
| 謝辞 | 52 |
| 引用文献 | 53 |
| 英語要旨 | 58 |

凡 例

GABA : gamma-aminobutyric acid, γ -アミノ酪酸

HPCD : 2-(2-hydroxypropyl)- β -cyclodextrin, 2-(2-ヒドロキシプロピル)- β -シクロデキストリン

IM : intramuscular administration, 筋肉内投与

IV : intravenous administration, 静脈内投与

MABP : mean arterial blood pressure, 平均動脈血圧

NMABP : non-invasive mean arterial blood pressure, 非観血的平均動脈血圧

NSAIDs : non-steroidal anti-inflammatory drugs, 非ステロイド系抗炎症薬

PaO₂ : partial pressure of arterial oxygen, 動脈血酸素分圧

PaCO₂ : partial pressure of arterial carbon dioxide, 動脈血二酸化炭素分圧

SC : subcutaneous administration, 皮下投与

SpO₂ : saturation of percutaneous oxygen, 経皮的動脈血酸素飽和度

TN : trans nasal administration, 経鼻投与

緒言

ウサギ (*Oryctolagus cuniculus*) は、実験動物として研究分野に広く用いられるとともに、食用動物または愛玩動物としても飼育されてきた。ウサギは大人しく静かな性格であり、わが国の都市部の住居環境で愛玩動物として飼育することに適していることから、近年、珍しい品種を含む様々なウサギの飼育数が増加しつつある。また、犬や猫と同様に、愛玩飼育されているウサギの多くは家族の一員である伴侶動物として社会に認識されている。現在、わが国の獣医臨床では、これらの伴侶動物に対して人医療に準じる高度な獣医療を高い安全性で提供することが強く求められるようになってきている [47]。しかしながら、犬や猫と比較すると、ウサギの獣医療は未だ発展途上の分野であり、高度な獣医療を高い安全性で提供するためには多くの検討課題が山積した状況にある。例えば、伴侶動物にコンピュータ断層撮影や核磁気共鳴画像などの高度画像診断法を実施する際には安全な鎮静不動化法が必要不可欠となるが、多くの獣医麻酔の成書に示されているウサギの鎮静薬や麻酔薬の投与量の多くは実験動物に強い効果を得られるものであり [17]、臨床例に適した情報とは言い難い場合も多い。

現在、動物の鎮静不動化には、注射麻酔薬や注射鎮静薬、または吸入麻酔薬が主に用いられている [18]。吸入麻酔薬は、多くの動物種に利用されているが、動物へ投与するために麻酔器や医療ガス供給源といった大きな機器設備が必要となる。さらに、大量に発生する吸入麻酔薬を含んだ余剰ガスの排気による環境汚染を考慮する必要がある [10]。一方、鎮静薬や麻酔薬の注射投与による鎮静不動化は、多くの動物種に容易に実施が可能であり、吸入麻酔薬のように余剰ガスの排気による環境汚染を考慮する必要はない。ウサギでは、投与の容易さと効果発現の確実性のために、解離性麻酔薬のケタミンと α_2 -アドレナリン受容体作動薬のキシラジンやメデトミジンの混合筋肉内 (IM) 投与による鎮静不動化法が広く用いられてきた [23]。しかしながら、わが国では、2007 年にケタミンが麻薬に指定され、実験動物を用いる研究分野ならびに飼育動物を対象とする臨床例においても、麻薬及び向精神取締法を遵守するためにその使用は煩雑となったことから、ケタミンを使用しない IM 投与による注射麻酔法の開発が喫緊の課題となっている。

アルファキサロンは、シクロペンタ- β -フェナントレイン骨格を有する化合物で、ステロイド系注射麻酔薬に分類される[49]。その化学構造は性ステロイドホルモンのプロジェステロンに類似するが、ステロイドホルモンとしての内分泌活性はなく[30]、プロポフォールやバルビツール酸誘導体と同様に γ -アミノ酪酸サブタイプ A (GABA_A) 受容体に結合して鎮静麻酔効果を発現する[48]。アルファキサロンは、1970年代にアルファキサロン/アルファドロン合剤として注射用製剤が開発され、欧米において人ならびに犬猫に臨床応用されたが、溶媒に用いられたヒマシ油誘導体(Cremophor EL) による重篤なアレルギー反応が認められたことから販売中止となった[8,12]。その後、1989年に2- β -ヒドロキシプロピル- β -シクロデキストリン(HPCD)と包接体を作ることでアルファキサロンの水溶性を劇的に高められることが見出され[4]、1990年代後半にはアルファキサロン-HPCDが開発され、豪州、ニュージーランドおよび南アフリカ共和国において先駆けて犬猫への静脈内(IV)投与による麻酔導入薬としての臨床応用が開始された。わが国では、2013年にアルファキサロン-HPCD製剤が動物用注射麻酔薬として犬猫に承認された。

アルファキサロン-HPCDは、組織刺激性が極めて少ないことから、犬や猫[49]をはじめ、グリーンイグアナ[5]、ヨツユビリクガメ[22]、ミシシippアカミミガメ[27]、コモンマーモセット[46]、豚[40]、モルモット[14] およびウサギ[24]など多くの動物種においてIM投与で良好な鎮静不動化を得られることが報告されている。ウサギでは、Huynhら[24]がアルファキサロン-HPCD 4~6mg/kgのIM投与で適切な鎮静不動化を得られると報告している。しかし、ウサギの診断検査や治療処置などにしばしば要する短時間の鎮静不動化は、Huynhら[24]が検討しなかった4mg/kg未満のより低用量のアルファキサロン-HPCD製剤のIM投与によって得られると期待される。また、現行のアルファキサロン-HPCDのアルファキサロン濃度は10mg/mLであり、Huynhら[24]の報告に基づくウサギへのIM投与体積は0.4~0.6mL/kgと大きく、臨床的には利用困難と考えられる。さらに、欧州連邦製薬工業協会および欧州代替法バリデーションセンターは、動物福祉の観点からウサギでのIM投与体積を0.25mL/kgと推奨している[11]。

最近、全身作用薬の新たな薬剤投与経路として、経鼻(TN)投与が注目されている。鼻粘膜は、毛細血管網が発達していることから良好な薬物吸収が期待でき、即効性を

期待する薬物や初回通過代謝を大きく受ける薬物の投与経路として有用である [35,42]。また、鼻粘膜へのワクチン抗原接種により粘膜抗体の産生が期待でき、鼻粘膜を含む上気道が感染経路のウイルス等に対する感染防御に寄与する [29]。さらに、嗅部から脳への薬物送達が可能で、血液脳関門を通過しにくい薬物などについて脳移行性を高め得る [42]。人医療では、TN 投与の利点として、救急処置や急性症状に対して有用な即吸収性（痛みの即緩和など）、初回通過代謝を受ける薬物や消化管内で失活する薬物の経腸経路を回避することによる生物利用性の改善、針無し投与による非侵襲性などが提案されており [35]、TN 投与は鎮痛薬、全身麻酔薬および中枢神経系作用薬など多種多様な治療薬において検討されている [19]。獣医療においても、犬や猫にワクチネーション [15,16,41,48] や全身麻酔薬 [31,51] に TN 投与が検討されている。また、ウサギにおいて、デクスメデトミジン、ミダゾラム、およびブトルファンールの混合 TN 投与による鎮静効果が報告されている [38]。アルファキサロン-HPCD についても TN 投与によって鎮静不動化を得られる可能性があると考えられるが、現時点において、ウサギを含む動物種における検討は皆無である。

前述のように、アルファキサロン-HPCD は、ウサギにおいて IM 投与で鎮静不動化に利用できることが報告されている [24]。しかしながら、アルファキサロン-HPCD 4mg/kg 未満の低用量で IM 投与した際の鎮静不動化効果については未だ検討されておらず、さらにアルファキサロン-HPCD の TN 投与によって有用なウサギの鎮静不動化を得られると期待される。これらのことから、本研究では、まず、第一章においてウサギにおける低用量アルファキサロン-HPCD の IM 投与で得られる鎮静不動化効果を基礎的に検討した。続いて、第二章では、アルファキサロン-HPCD をウサギに IM 投与、皮下（SC）投与および TN 投与した際の鎮静不動化効果を比較検討した。さらに、第三章において、アルファキサロン-HPCD の TN 投与のウサギにおける鎮静不動化至適投与量を検討した。

第一章

ウサギにおける低用量アルファキサロンの筋肉内投与による薬力学的効果

1.1. 小 緒

ウサギでは、解離性麻酔薬のケタミンと α_2 -アドレナリン受容体作動薬のキシラジンやメデトミジンの混合 IM 投与による鎮静不動化法が広く用いられてきた[23]。しかしながら、わが国では、2007年にケタミンが麻薬に指定され、研究分野ならびに臨床例においてもその使用は煩雑となったことから、ケタミンを使用しない IM 投与による注射麻酔法の開発が喫緊の課題となっている。

アルファキサロン-HPCDは、組織刺激性が極めて少ないことから、多くの動物種において IM 投与による良好な鎮静不動化効果が報告されている[1,5,14,21,22,24,27,40,43,45,46]。Huynhら[24]は、健康なウサギにアルファキサロン-HPCDを4、6および8 mg/kgの3用量でIM投与し、4～6 mg/kgの投与量で適切な鎮静不動効果を得られると報告した。しかし、鎮静持続時間は4および6 mg/kg IMではそれぞれ36.9分および51.8分と比較的長い[24]。また、アルファキサロン-HPCD 8 mg/kgをIM投与したウサギ10羽のうち1羽が呼吸抑制で死亡しており、高用量では重度の有害事象が引き起こされる可能性がある[24]。また、近年、飼育数が増加しつつある愛玩動物として飼育されるウサギの臨床では、X線撮影、血管確保、採血および歯科処置などの診断検査や治療処置などに要する短時間の鎮静不動化がしばしば求められる。このような短時間のウサギの鎮静不動化は、Huynhら[24]が検討した4～8 mg/kgより低用量のアルファキサロン-HPCDのIM投与によって得られると期待される。しかしながら、ウサギにおいて、アルファキサロン-HPCDを4 mg/kg未満の低用量でIM投与した際の鎮静不動化効果については未だ検討されていない。

以上のことから、この低用量においても、ウサギに用量依存性の鎮静不動化を得られると仮説を立てた。本章では、アルファキサロン-HPCD製剤を過去に報告されている投与量より低用量(1～5 mg/kg)でウサギにIM投与した際の鎮静不動効果について検討した。

1.2 材料および方法

1.2.1 供試ウサギ

临床上健康なウサギ雌6羽（日本白色種, 年齢9-11ヶ月齢, 体重3.6-4.2kg）を最低1週間間隔で繰り返し用い、アルファキサロン-HPCDを1 mg/kg IM（IM1群）、2.5 mg/kg IM（IM2.5群）または5 mg/kg IM（IM5群）の計3回の薬物投与実験を実施した。本研究は、本学動物実験委員会の承認を得て実施した（動物実験計画承認番号VH17A21）。

1.2.2 実験プロトコール

すべての供試ウサギには、実験開始まで絶食や飲水制限を実施しなかった。まず、薬物投与前に、各供試ウサギの安静時の鎮静状態と呼吸循環機能測定項目のbaseline値を測定記録した。続いて、2.5mLプラスチック製シリンジ（ニプロシリンジ，ニプロ株式会社，大阪）および25G注射針（TOP 注射針，株式会社トップ，東京）を用い、供試ウサギの腰背部筋肉にアルファキサロン-HPCD（アルファキサン，Meiji Seikaファルマ株式会社，東京）をIM投与した。3回の薬物投与実験におけるアルファキサロンの最終投与体積は生理食塩液（テルモ生食，テルモ株式会社，東京）で0.5 mL/kgに調整し、鎮静評価者には盲検として無作為な順序で投与した。各群において、アルファキサロン-HPCD投与前の安静時（baseline値）およびアルファキサロン-HPCD投与後5、10、15、20、25、30、45、60、75、90および120分目に供試ウサギの鎮静状態および呼吸循環機能測定項目を測定した。

1.2.3 鎮静状態の評価

鎮静状態の評価にはTamuraら[43]が猫で用いた鎮静評価表を用い、自然姿勢、全体的な態度、横臥位抵抗性、音への反応および顎緊張の5項目について各項目を4～5段階にスコア化して評価し、各スコアの合計を鎮静スコア（0～16）として評価した（表1-1）。また、アルファキサロン-HPCD投与後に横臥位抵抗性が消失するまでの時間（至横臥時間）、横臥位抵抗性が消失してから横臥位抵抗性が回復するまでの時間（横臥持続時間）を記録した。また、有害事象（投与時の疼痛, 眼振, 遊泳運動, 振戦, 後弓反張, 覚醒時のふらつき）の発生状況も記録した。

表1-1 . 鎮静スコア[43]

| スコア | 自然姿勢 | 全体的な態度 | 横臥位抵抗性 | 顎緊張 | 音への反応 |
|-----|----------------|--------|--------|------|--------|
| 0 | 起立 | 興奮 | 強く抵抗 | 抵抗 | 飛び跳ねる |
| 1 | ふらつくが起立 /伏臥 | 覚醒 | 抵抗 | 弱く抵抗 | 身体を動かす |
| 2 | 起立可能な横臥 | 鎮静 | わずかに抵抗 | 無抵抗 | 耳を動かす |
| 3 | 起立困難な横臥 | 意識消失 | 無抵抗 | | わずかに反応 |
| 4 | 横臥 | | | | 無反応 |

1.2.4 呼吸循環機能の測定項目

呼吸循環機能の評価項目として脈拍数、呼吸数、非観血的動脈血圧および経皮的動脈血酸素飽和度 (SpO₂) を測定した。手根部近位を剃毛し、パルスオキシメータプローブ (LNOP Neo-L, マシモジャパン株式会社 東京) を設置し、脈拍数およびSpO₂ をパルスオキシメータ (Radical-7, マシモジャパン株式会社) を用いて測定した。脈拍数が240 回/分を超えた場合には脈を指で触知し、脈拍数を測定した。呼吸数は、胸郭の動きを観察して測定した。非観血的動脈血圧の測定ではパルスオキシメータプローブを設置していない側の手根部近位を毛刈りし、手根部近位全周長の40~50%の幅の動物用血圧計専用カフ (クリッターカフ, 株式会社AVS, 東京) を装着し、動物用血圧計 (petMAP graphic, 株式会社AVS) を用いてオシロメトリック法にて動脈血圧を2回測定し、測定された2回の平均動脈血圧の平均値を非観血平均動脈血圧 (NMABP) として記録した。

1.2.5 統計学的分析

データは中央値 (四分位範囲) で記載した。鎮静スコアおよび呼吸循環機能の測定項目のbaseline値、鎮静スコアの最高値、至横臥時間および横臥持続時間については、

Kruskal-Wallis検定および多重比較検定としてSteel-Dwass法を用いて3群間で比較した。各群の鎮静スコア、呼吸循環機能の測定項目はKruskal-Wallis検定および多重比較検定としてSteel法を用いて各baseline値と比較した。また、有害事象の発生と投与量の関係性には二乗検定を用いた。いずれの解析結果も $P < 0.05$ で統計学的有意差ありとした。

1.3 成績

1.3.1 薬物投与実験における供試ウサギの状態

各薬物投与実験前には、すべての供試ウサギにおいて食欲や活動性に異常はなかった。また鎮静スコア、脈拍数、呼吸数、NMABP、およびSpO₂のbaseline値には、群間に有意な差は認められなかった。アルファキサロン-HPCD投与中には、IM投与による疼痛に関連すると考えられる行動変化(逃げようとし、強い保定が必要になる)をIM1群で5羽(83%)、IM2.5群で4羽(67%)、およびIM5群で3羽(50%)の供試ウサギに認めた。この行動変化の発生状況とアルファキサロン-HPCDの投与量の間には有意差は認められなかった。加えて、すべての供試ウサギにおいて、アルファキサロン投与直後から実験終了まで注射部位を気にする様子は認められなかった。

1.3.2 鎮静状態の変化

表1-2に、薬物投与後に横臥した供試ウサギの頭数、至横臥時間、横臥持続時間、および薬物投与後10分目における各群の鎮静スコアを要約した。IM2.5群およびIM5群では、アルファキサロン-HPCD投与後にすべての供試ウサギが横臥した。IM1群では、アルファキサロン-HPCD投与後に供試ウサギ6羽中3羽(50%)が横臥したが、残りの3羽には鎮静効果を認めたものの横臥位に至らなかった。IM2.5群およびIM5群の至横臥時間は6分間および4分間と比較的速やかであり、アルファキサロン-HPCDの用量依存性に短縮した($P < 0.05$)。また、横臥持続時間の中央値(四分位範囲)は、IM1群で0.5分間(0-7)、IM2.5群で22.5分間(19-27)およびIM5群で53分間(48-58)であり、アルファキサロン-HPCDの用量依存性に延長した($P < 0.05$)。

図1-1に、各群における鎮静スコアの中央値の推移を示した。また、表1-3に鎮静スコアの各項目別の推移を示した。鎮静スコアは、いずれの群においてもアルファキサロン-HPCD投与後比較的速やかに上昇し、IM1群で投与後10~15分、IM2.5群で投与後5~30分、およびIM5群で投与後5~45分にbaseline値と比較して有意に高いスコアを示した(いずれの群も $P < 0.05$)。また、鎮静スコアの最大値の中央値(四分位範囲)は、IM1群で3.5(3-4)、IM2.5群で13.5(12-14)、およびIM5群で15(12-15)を示し、IM2.5群

およびIM5群の鎮静スコアの最大値はIM1群に比較してそれぞれ有意に高かった(それぞれ $P < 0.05$)。

1.3.3 呼吸循環機能測定項目の変化

表1-4に、薬物投与後の呼吸循環機能測定項目の変化を示した。いずれの群においても、アルファキサロン-HPCD投与後の脈拍数およびNMABPに有意な変化は認められなかった。また、脈拍数およびNMABPの最大値および最小値に関しても、群間に有意な差は認められなかった。アルファキサロン-HPCD投与後には、すべての群で自発呼吸が維持されたが、呼吸数はIM2.5群で投与後5～30分およびIM5群で投与後10～75分にbaseline値と比較して有意に低下し(いずれの群も $P < 0.01$)、呼吸数の最低値はIM2.5群で投与後15～20分に48回/分およびIM5群で投与後15～30分に42回/分であり、いずれの群もIM1群に比較して有意に減少した($P < 0.05$)。SpO₂は、測定値を得られない場合も測定期間中散見されたが、SpO₂95%未満の低酸素血症をIM2.5群の1羽(17%)およびIM5群の3羽(50%)に認めた。

1.3.4 有害事象の発生状況

IM5群の2羽(33%)に眼振を認めた。覚醒時のふらつきをIM1群の1羽(17%)、IM2.5群の2羽(33%)、およびIM5群の3羽(50%)に認めた。また、振戦をIM5群の1例(17%)に認めた。

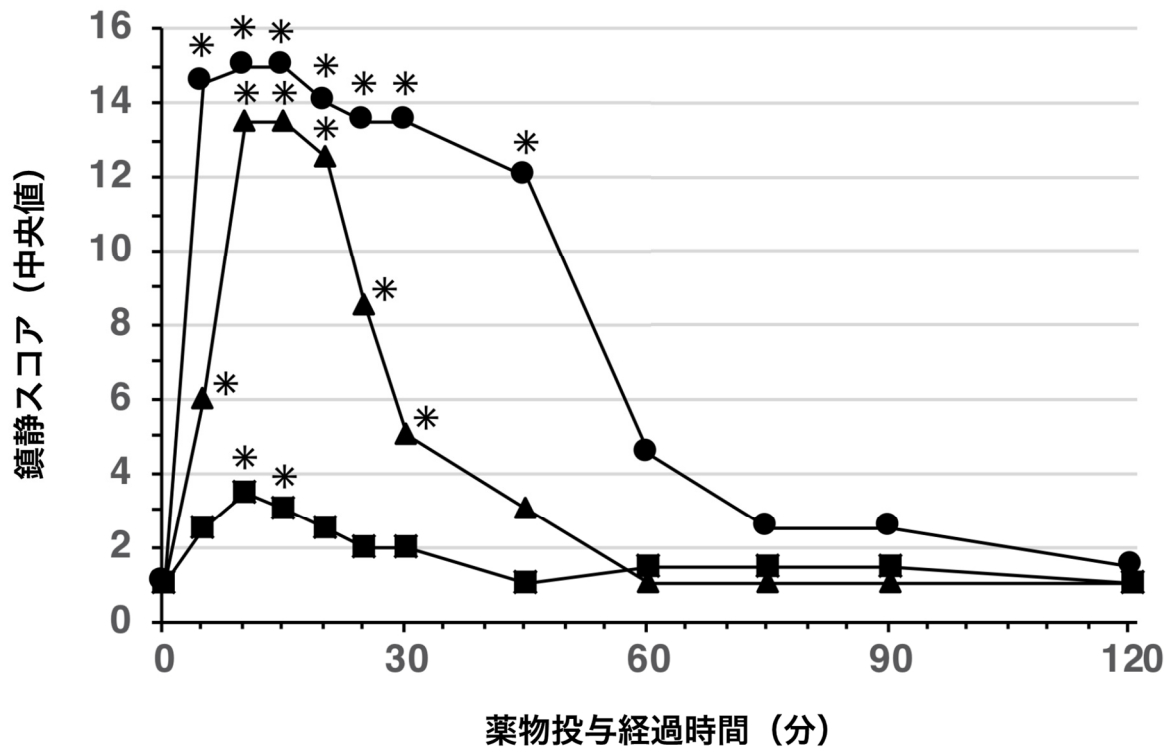


図 1-1 . 薬物投与後の鎮静スコアの推移

プロットは、IM1 群(■)、IM2.5 群(▲)、および IM5 群(●)の鎮静スコアの中央値を示す。鎮静状態は、自然姿勢(スコア 0~4)、全体的な態度(スコア 0~3)、横臥位抵抗性(スコア 0~3)、顎緊張(スコア 0~2)、および音への反応(スコア 0~4)の 5 項目についてスコア化して評価し、各スコアの合計を鎮静スコア(0~16)として評価した[43]。IM1 群：供試ウサギ 6 羽にアルファキサロン-HPCD 1 mg/kg を筋肉内(IM)投与した。IM2.5 群：供試ウサギ 6 羽にアルファキサロン-HPCD 2.5 mg/kg を IM 投与した。IM5 群：供試ウサギ 6 羽にアルファキサロン-HPCD 5 mg/kg を IM 投与した。*：baseline の鎮静スコアと比較して有意差あり ($P < 0.05$)。

表1-2 . 薬物投与後に横臥した供試ウサギの頭数、至横臥時間、横臥持続時間
および投与後10分目における鎮静スコア

| | IM1群 | IM2.5群 | IM5群 |
|---------------|------------|---------------------------|---------------------------|
| 横臥した供試ウサギ (羽) | 3 | 6 | 6 |
| 至横臥時間 (分) | 16 (15-17) | 6 (6-6) ^a | 4 (4-4) ^a |
| 横臥持続時間 (分) | 0.5 (0-7) | 22.5 (19-27) ^a | 53 (48-58) ^{a,b} |
| 10分目における鎮静スコア | 3.5 (3-4) | 13.5 (12-14) ^a | 15 (12-15) ^a |

至横臥時間、横臥持続時間、および10分目における鎮静スコアは、供試ウサギ6羽の中央値（四分位範囲）で示した。IM1群：供試ウサギ6羽にアルファキサロン-HPCD 1 mg/kg を筋肉内(IM)投与した。IM2.5群：供試ウサギ6羽にアルファキサロン-HPCD 2.5 mg/kg をIM投与した。IM5群：供試ウサギ6羽にアルファキサロン-HPCD 5 mg/kg をIM投与した。至横臥時間：アルファキサロン-HPCD投与後に横臥位抵抗性が消失するまでの時間。横臥持続時間：横臥位抵抗性が消失してから横臥位抵抗性が回復するまでの時間。a：IM1群との有意差 $P < 0.05$ 。b：IM2.5群との有意差 $P < 0.05$ 。

表1-3. 薬物投与後の鎮静スコアの各項目別の推移

| | | アルファキサロン投与後の経過時間 | | | | | | | | | | | |
|--------|--------|------------------|-----------|-----------|-------------|-------------|-------------|-------------|-----------|-------------|-----------|-----------|-----------|
| | | 0 | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 | 30 | 45 | 60 | 75 | 90 | 120 |
| 自然姿勢 | IM1群 | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0.5 (0-1) | 0.5 (0-1) | 0.5 (0-2.5) | 0 (0-2.3) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) |
| | IM2.5群 | 0 (0-0) | 1 (1-2.5) | 4 (4-4) | 4 (4-4) | 4 (4-4) | 3 (3-3.8) | 2.5 (1-4) | 0 (0-2.3) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) |
| | IM5群 | 0 (0-0) | 4 (4-4) | 4 (4-4) | 4 (4-4) | 4 (4-4) | 4 (4-4) | 4 (4-4) | 4 (2.5-4) | 1 (0.3-2.5) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) |
| 横臥位抵抗性 | IM1群 | 0 (0-0) | 1 (1-1) | 1 (1-1) | 1 (1-1.8) | 1 (0.3-2.5) | 0.5 (0-1.8) | 0.5 (0-1) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) |
| | IM2.5群 | 0 (0-0) | 1.5 (1-2) | 3 (3-3) | 3 (3-3) | 3 (3-3) | 2.5 (1.3-3) | 1 (1-2.5) | 0.5 (0-1) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) |
| | IM5群 | 0 (0-0) | 3 (3-3) | 3 (3-3) | 3 (3-3) | 3 (3-3) | 3 (3-3) | 3 (3-3) | 3 (2.3-3) | 1 (1-1) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) |
| 音への反応 | IM1群 | 1 (1-1) | 1.5 (1-2) | 1 (1-1) | 1 (1-1) | 1 (1-1.8) | 1.5 (1-2) | 1 (1-1.8) | 1 (1-1) | 1 (1-1) | 1 (1-1) | 1 (1-1) | 1 (1-1) |
| | IM2.5群 | 1 (1-1) | 2 (1.3-2) | 3.5 (3-4) | 3.5 (1.5-4) | 3 (1.5-3.8) | 1.5 (1-2) | 2 (1.3-2.8) | 1 (1-1.8) | 1 (1-1) | 1 (1-1) | 1 (1-1) | 1 (1-1) |
| | IM5群 | 1 (1-1) | 4 (1.8-4) | 4 (4-4) | 4 (4-4) | 4 (3.3-4) | 4 (1.8-4) | 4 (3.3-4) | 2 (1-3.8) | 1 (1-1.8) | 1.5 (1-2) | 1.5 (1-2) | 1 (1-1.8) |
| 顎緊張 | IM1群 | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) |
| | IM2.5群 | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 1 (1-1) | 1 (0.3-1) | 1 (0.3-1) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) |
| | IM5群 | 0 (0-0) | 1 (1-1) | 1 (1-1) | 1 (1-1.8) | 1 (1-1) | 1 (1-1) | 0.5 (0-1) | 0 (0-0) | 1 (0-0) | 2 (0-0) | 3 (0-0) | 4 (0-0) |
| 全体的な態度 | IM1群 | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 1 (0.3-1) | 1 (0.3-1.8) | 0 (0-1.5) | 0 (0-1.5) | 0 (0-0.8) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) |
| | IM2.5群 | 0 (0-0) | 1.5 (1-2) | 2 (2-2) | 2.5 (2-3) | 2 (2-2) | 1.5 (0.3-2) | 1 (1-1.8) | 1 (0.3-1) | 0 (0-0.8) | 0 (0-0.8) | 0 (0-0.8) | 0 (0-0) |
| | IM5群 | 0 (0-0) | 2.5 (2-3) | 3 (2.3-3) | 3 (2.3-3) | 2.5 (2-3) | 2 (2-2.8) | 2 (2-2.8) | 2 (2-2) | 1 (1-1) | 1 (0.3-1) | 0.5 (0-1) | 0 (0-0) |

得られたデータは供試ウサギ6羽の中央値（四分位範囲）で示した。IM1群：供試ウサギ6羽にアルファキサロン-HPCD 1 mg/kg を筋肉内（IM）投与した。IM2.5群：供試ウサギ6羽にアルファキサロン-HPCD 2.5 mg/kg をIM投与した。IM5群：供試ウサギ6羽にアルファキサロン-HPCD 5 mg/kg をIM投与した。

表1-4. 薬物投与後の呼吸循環測定項目の推移

| | | アルファキサロン投与後の経過時間 | | | | | | | | | | | |
|-------------------------|--------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | | Baseline | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 | 30 | 45 | 60 | 75 | 90 | 120 |
| 脈拍数 (回/分) | IM1群 | 234 (6: 217-245) | 249 (6: 235-266) | 243 (6: 236-253) | 233 (6: 217-239) | 255 (6: 247-264) | 231 (6: 213-252) | 223 (6: 212-232) | 240 (6: 236-242) | 247 (6: 226-272) | 224 (6: 212-244) | 230 (6: 220-260) | 223 (6: 207-236) |
| | IM2.5群 | 201 (6: 185-240) | 288 (6: 261-300) | 285 (6: 248-309) | 237 (6: 221-254) | 230 (6: 218-238) | 235 (6: 227-257) | 237 (6: 222-238) | 227 (6: 212-240) | 223 (6: 217-231) | 229 (6: 211-240) | 233 (6: 229-266) | 223 (6: 211-232) |
| | IM5群 | 219 (6: 199-240) | 269 (6: 247-302) | 256 (6: 244-271) | 242 (6: 240-253) | 244 (6: 225-268) | 260 (235-285) | 267 (6: 233-275) | 233 (6: 221-276) | 232 (6: 218-245) | 229 (6: 214-234) | 232 (6: 215-259) | 231 (6: 213-258) |
| 呼吸数 (回/分) | IM1群 | 186 (6: 180-192) | 156 (6: 141-171) | 144 (6: 123-171) | 161 (6: 135-167) | 139 (6: 122-164) | 156 (6: 93-228) | 126 (6: 120-159) | 195 (6: 188-230) | 225 (6: 201-257) | 183 (6: 180-200) | 186 (6: 171-213) | 212 (6: 186-228) |
| | IM2.5群 | 192 (6: 168-210) | 116 (6: 100-129) | 66 (6: 51-81)a | 48 (6: 42-57)a | 48 (6: 39-66)a | 96 (6: 57-117)a | 72 (6: 48-105) | 117 (6: 99-149) | 162 (6: 147-177) | 150 (6: 132-186) | 174 (6: 168-213) | 174 (6: 147-206) |
| | IM5群 | 162 (152-200) | 54 (6: 39-87)a | 48 (6: 39-57)a | 42 (6: 32-48)a | 42 (6: 32-48)a | 42 (6: 36-48)a | 42 (6: 32-48)a | 45 (6: 38-48) | 63 (6: 51-80) | 96 (6: 78-105) | 126 (6: 111-141) | 155 (6: 147-174) |
| NMABP (mmHg) | IM1群 | 133 (6: 127-137) | 143 (6: 114-149) | 110 (6: 99-138) | 125 (6: 110-129) | 118 (6: 104-142) | 107 (6: 98-111) | 108 (6: 102-109) | 114 (6: 107-119) | 114 (6: 97-123) | 128 (6: 117-133) | 108 (6: 104-121) | 120 (6: 111-130) |
| | IM2.5群 | 145 (6: 130-157) | 129 (6: 118-143) | 117 (6: 110-129) | 114 (6: 101-123) | 115 (6: 106-126) | 116 (6: 104-141) | 113 (6: 110-122) | 134 (6: 123-141) | 139 (6: 120-140) | 151 (6: 124-159) | 128 (6: 118-131) | 145 (6: 135-158) |
| | IM5群 | 132 (6: 126-153) | 115 (6: 106-119) | 110 (6: 108-119) | 117 (6: 107-129) | 112 (6: 112-116) | 117 (6: 108-122) | 124 (6: 111-135) | 133 (6: 117-156) | 121 (6: 117-131) | 145 (6: 122-159) | 128 (6: 122-159) | 150 (6: 117-164) |
| SpO ₂ (%) | IM1群 | 97 (6: 95-98) | 100 (4: 100-100) | 98 (5: 98-99) | 98 (5: 97-100) | 97 (5: 96-100) | 100 (5: 98-100) | 100 (5: 98-100) | 100 (6: 98-100) | 99 (6: 97-100) | 99 (6: 98-100) | 100 (6: 99-100) | 98 (6: 97-99) |
| | IM2.5群 | 100 (6: 97-100) | 97 (4: 97-98) | 96 (4: 96-97) | 96 (4: 96-97) | 100 (5: 98-100) | 96 (5: 96-100) | 99 (5: 95-100) | 100 (6: 97-100) | 99 (6: 96-100) | 99 (6: 98-100) | 100 (6: 98-100) | 99 (6: 97-100) |
| | IM5群 | 98 (6: 97-100) | 95 (4: 93-97) | 98 (4: 95-98) | 95 (3: 92-95) | 95 (3: 94-95) | 92 (2: 92-93) | 95 (3: 93-98) | 96 (4: 95-98) | 99 (5: 97-100) | 100 (5: 100-100) | 98 (5: 97-100) | 100 (6: 98-100) |

得られたデータは供試ウサギ6羽の中央値（四分位範囲）で示した。IM1群：供試ウサギ6羽にアルファキサロン-HPCD 1 mg/kg を筋肉内（IM）投与した。IM2.5群：供試ウサギ6羽にアルファキサロン-HPCD 2.5 mg/kg をIM投与した。IM5群：供試ウサギ6羽にアルファキサロン-HPCD 5 mg/kg をIM投与した。NMABP:非観血的平均動脈血圧、SpO₂:経皮的動脈血酸素飽和度。a：baseline値と比較して有意差あり（ $P < 0.05$ ）

1.4 考 察

本章の結果から、健康なウサギにアルファキサロン-HPCDを1~5 mg/kgでIM投与することによっても用量依存性の鎮静不動化効果を得られた。また、アルファキサロン-HPCD 2.5 mg/kg IMの低用量で、ウサギは速やかに横臥に至り、20分間程度の短時間持続する深い鎮静不動化を呈することが明らかになった。一方、アルファキサロン-HPCD 5 mg/kg IMでは、50分程度と長く持続する深い鎮静不動化を生じた。以上の結果から、ウサギの短時間の鎮静不動化については、アルファキサロン-HPCD 2.5 mg/kgの低用量IM投与が適していると結論された。

アルファキサロン-HPCDはGABA_A受容体に結合することにより、鎮静不動化効果をもたらすが、鎮痛効果はもたらさない[30]。Huynhら[24]は、高用量のアルファキサロン-HPCD(4~8 mg/kg)をIM投与した後でも、ウサギの後肢の足先摘み反応は残っていたことから、鎮痛効果は得られなかったと報告した。本章では、低用量のアルファキサロン-HPCDのIM投与における鎮静不動化効果を評価することを目的としたことから、アルファキサロンが上述したとおり鎮痛効果を有してないため、鎮静不動化効果ならびに呼吸循環機能の評価に影響をおよぼす侵害刺激(供試ウサギへの痛み刺激など)を可能な限り排除した。

本章では、アルファキサロン-HPCDを低用量でIM投与後の供試ウサギにおける至横臥時間は用量依存性に短く、横臥持続時間は用量依存性に延長した。Huynhら[24]は、ウサギにアルファキサロン-HPCD 4 mg/kg、6 mg/kgおよび8 mg/kgをIM投与し、それぞれ至横臥時間の平均値(95%信頼区間)は3.1分(2.5-3.8)、2.4分(1.7-3.1)および2.3分(1.6-2.9)、横臥持続時間の平均値(95%信頼区間)は36.9分(31.6-42.3)、51.8分(46.4-57.2)、および58.4分(52.8-63.9)であり、アルファキサロン-HPCDの用量依存性に至横臥時間は短縮し、横臥持続時間は延長したと報告している。本章の結果とHuynhら[24]の報告は、ウサギにおけるアルファキサロン-HPCDのIM投与量による用量依存性の鎮静不動化効果を低用量から高用量までお互いに補完するものである。

本章では、アルファキサロン-HPCD 2.5 mg/kgおよび5 mg/kgをIM投与したすべての供試ウサギが横臥し、深い鎮静不動化を示した。一方で、アルファキサ

ロン-HPCD 1 mg/kgをIM投与した供試ウサギでは、横臥を示したのは3羽(6羽中)のみであった。これらの所見は、ウサギが横臥する深い鎮静不動化を得られるアルファキサロン-HPCDの最低IM投与量は2.5 mg/kgであることを示している。Tamuraら [41,42]は、犬および猫においてアルファキサロン-HPCD 2.5 mg/kgをIM投与することで横臥する深い鎮静不動化を得られることを報告している。とくに、供試ウサギにおけるアルファキサロン-HPCDのIM投与後の鎮静スコアの変化は、同じ鎮静評価表を用いたTamuraら [43]の報告におけるアルファキサロン-HPCDのIM投与後の猫の鎮静スコアの変化と同様であった。アルファキサロン-HPCDのIM投与による鎮静不動化の効果に関しては、犬、猫およびウサギにおいて動物種差は最小限であると考えられる。

欧州連邦製薬工業協会および欧州代替法バリデーションセンターは、動物福祉の観点から、実験ウサギでの推奨IM投与体積を0.25 mL/kgとし、その最大投与体積を0.5 mL/kgと定めている [11]。本章では、供試ウサギにアルファキサロン-HPCD のIM投与による疼痛に関連すると考えられる行動変化を認めた。既報においても、アルファキサロン-HPCD投与中の犬および猫においてIM投与による疼痛に関連する行動変化を認めたと報告されている [43,44]。一方、Michouら [32]らは、アルファキサロン-HPCDのpHは中性であることから、脂質不含プロポフォルに比較して、IV投与時の痛みはほとんどないと報告している。Huynhら [24]は、ウサギにアルファキサロン-HPCDを0.4~0.8 mL/kgでIM投与してもよく耐えるが、多くのウサギが投与時に疼痛反応を示したと報告している。本章およびHuynhら [24]の報告のいずれにおいても比較的大きな投与体積をIM投与していることから、アルファキサロン-HPCDによる局所刺激ではなく、大きな用量を筋肉内に注入する際の違和感がウサギに投与時の反応を引き起こしたものと推測される。

本章では、アルファキサロン-HPCDのIM投与後に一過性に供試ウサギの脈拍数と動脈血圧が増加したが、その後の供試ウサギの脈拍数ならびに動脈血圧の変化について群間に差はなく、低血圧も認められなかった。Huynhら [24]も、アルファキサロン-HPCDをIM投与したウサギにおいて、同様の脈拍数の変化を認めている。前述したように、供試ウサギには、大きな投与体積のアルファキサロン-HPCDを筋肉内に注入する違和感に対する反応や行動変化を認めた。したがっ

て、アルファキサロン-HPCDのIM投与後の一過性の脈拍数の増加は、大きな体積の薬液を筋肉内の注入する際の違和感によって引き起こされたものと推測される。本章ではアルファキサロン-HPCDを低用量でIM投与した供試ウサギにおいて最小限の循環抑制しか認められなかったが、循環系機能の評価には心拍出量測定は実施しておらず、オシロメトリック式非侵襲的血圧計による血圧測定値は観血的血圧測定値と乖離することがウサギにおいて報告されている[3]。したがって、アルファキサロン-HPCDをIM投与した際のウサギの循環系機能への影響を確定するためには、更なる研究が必要である。

本章では、アルファキサロン-HPCDをIM投与したすべての供試ウサギで自発呼吸が維持されたが、呼吸数はアルファキサロン-HPCDの用量依存性に減少した。犬猫においても、アルファキサロン-HPCDのIM投与後に自発呼吸が維持されたが、臨床的にも意味のある高炭酸血症を認めたことが報告されている[43,44]。Huynhら[24]は、アルファキサロン-HPCDを4~6 mg/kgでIM投与したウサギでは無呼吸を認めないが、8 mg/kgをIM投与したウサギの1羽が無呼吸を示して死亡したと報告している。本章では、パルスオキシメーターを用いてSpO₂を測定しており、脈拍数が速すぎるまたは測定部の血流不足でSpO₂を測定できない場合があった。しかしながら、アルファキサロン-HPCDを2.5 mg/kgおよび5 mg/kgでIM投与した供試ウサギにおいて低酸素血症を示す低値のSpO₂が記録された。アルファキサロン-HPCDをIM投与した際のウサギの呼吸系機能への影響を確定するためには、更なる研究が必要である。

アルファキサロン-HPCDをIM投与した犬猫では、有害事象として、鎮静不動化の回復期初期に運動失調、一時的な筋振戦やパドリング、後弓反張および四肢伸展などが観察されている[43,44]。一方、ウサギではアルファキサロン-HPCDを8 mg/kgでIM投与した10分後に呼吸抑制で死亡した1羽を除き、鎮静不動化における有害事象は報告されていない[24]。また、本章においても、供試ウサギの一部に振戦、眼振およびふらつきを認めたのみであった。今後、ウサギの臨床例を用いた大規模な調査によって、アルファキサロン-HPCDをIM投与後の有害事象の発生状況を明確にする必要があると考える。

以上のことから、健康なウサギでは、アルファキサロン-HPCD 1~5 mg/kgのIM投与でも用量依存性の鎮静不動化効果を得られことが明らかになった。とく

に、アルファキサロン-HPCD 2.5 mg/kg IM によって20分程度横臥する深い鎮静効果を得られることが明らかとなった。

1.5 小 括

アルファキサロン-HPCDは、組織刺激性が少ない神経ステロイド系注射麻酔薬でありIM投与が可能である。ウサギにおいても、アルファキサロン-HPCDの4～6 mg/kg IM投与で鎮静効果を得られることが報告されているが[24]、4mg/kg未満の低用量については検討されていない。本章では、低用量のアルファキサロン-HPCDをIM投与した際の鎮静不動化効果を検討した。

健康なウサギ6羽を最低1週間間隔で繰り返し用い、アルファキサロン-HPCD 1 mg/kg (IM1群)、2.5 mg/kg (IM2.5群)、または5 mg/kg (IM5群)を腰部背側筋肉内に投与した。各群において、アルファキサロン-HPCD投与前の安静時 (baseline値) およびアルファキサロン-HPCD投与後5、10、15、20、25、30、45、60、75、90および120分目に供試ウサギの脈拍数、呼吸数、非観血的動脈血圧およびSpO₂を測定し、猫に使用された鎮静スコア[43](合計0-16:自発姿勢0-4, 横臥位抵抗性0-3, 音への反応性0-4, 顎緊張性0-2, 全体的な態度0-3)を用いて鎮静不動化効果を評価した。また、アルファキサロン-HPCD投与後の至横臥時間、横臥持続時間および有害事象の発生状況を記録した。

IM2.5群およびIM5群ではすべての供試ウサギがアルファキサロン-HPCD投与後に横臥したが、IM1群では3羽が横臥しなかった。至横臥時間はアルファキサロン-HPCDの用量依存性に短縮し、横臥持続時間は用量依存性に延長した。また、鎮静スコアは、アルファキサロン-HPCDの用量依存性に増大した。アルファキサロン-HPCD 1～5 mg/kg IMによる鎮静不動化効果は用量依存性であり、2.5 mg/kgで確実に横臥位となる深い鎮静不動化効果を得られた。また、アルファキサロン-HPCD 1～5 mg/kg IMでは顕著な呼吸循環抑制は認められなかった。

以上のことから、健康なウサギでは、アルファキサロン-HPCD 1～5 mg/kgのIM投与でも用量依存性の鎮静不動化効果を得られことが明らかになった。とくに、ウサギの短時間の鎮静不動化については、アルファキサロン-HPCD 2.5 mg/kgの低用量IM投与が適していると結論された。

(本章の内容は、Ishikawa, Y., Sakata, H., Tachibana, Y., Itami, T., Oyama, N., Umar, M. A., Sano, T., and Yamashita, K. 2019. Sedative and physiological effects of

low-dose intramuscular alfaxalone in rabbits. *J. Vet. Med. Sci.* **81**: 851-856.に公表した。)

第二章

ウサギにおけるアルファキサロンの筋肉内投与、皮下投与および経鼻投与における薬力学的効果の比較検討

2.1. 小 緒

アルファキサロン-HPCDは1990年代後半に開発され、現在、わが国を含む多くの国において犬や猫への麻酔導入薬としてIV投与が承認されている。一方、アルファキサロン-HPCDは、組織刺激性が少ないことからIM投与やSC投与でも使用することが可能であり、様々な動物種でこれらの投与方法による鎮静不動化効果が検討されている[5, 13, 14, 22, 27, 34, 37, 40, 43, 44]。ウサギでは、アルファキサロン-HPCDのIM投与によって用量依存性の鎮静不動化効果を得られることが示されており[7, 24, 25]、第一章においても、健康なウサギにアルファキサロン-HPCD 2.5 mg/kgをIM投与することで、横臥位が20分程度持続する深い鎮静不動化効果を得られることを明らかにした[25]。

鼻粘膜は、低分子のみならず高分子物質に対しても比較的高い透過性を示すとともに、嗅部から脳への薬物送達が期待できることから、近年、人医療において新たな薬物投与経路としてTN投与が注目され、鎮痛薬、全身麻酔薬および中枢神経系作用薬などにおいて検討されている[19, 42]。ウサギにおいては、デクスメトミジン 0.1 mg/kg、ミダゾラム 2.0 mg/kg およびブトルファノール 0.4 mg/kg の混合TN投与により、良好な鎮静効果と鎮痛効果を得られることが報告されている[38, 39]。また、ウサギでは、メドトミジン 0.2 mg/kg とケタミン 10 mg/kg もしくはS(+)ケタミン 5 mg/kg の混合TN投与により気管内挿管が可能であったという報告もされている[50]。アルファキサロン-HPCD についても、TN投与によって鎮静不動化を得られる可能性があると考えられるが、現時点において、ウサギを含む動物種における検討は皆無である。

以上のことから、本章では、健康なウサギにアルファキサロン-HPCDのIM投与、SC投与、またはTN投与の鎮静不動化効果を比較した。ウサギにおいて、アルファキサロン-HPCDのTN投与はIM投与に匹敵する鎮静不動化を得られると仮説を立てた。

2.2 材料および方法

2.2.1 供試ウサギ

臨床上健康なウサギ 雌6羽（日本白色種，年齢6-24ヶ月齢，体重3.1-4.2kg）を最低1週間間隔で繰り返し用い、3回の薬物投与実験を実施した。各薬物投与実験において、それぞれの供試ウサギにアルファキサロン-HPCDを5 mg/kgをIM投与（IM群）、SC投与（SC群）、またはTN投与（TN群）を実施した。本研究は、本学動物実験委員会の承認を得て実施した（動物実験計画承認番号VH17A25）。

2.2.2 実験プロトコール

すべての供試ウサギには、実験開始まで絶食や飲水制限を実施しなかった。実験準備として、パルスオキシメータプローブの設置、非観血的血圧測定用カフの設置、および耳中央動脈へのカテーテル留置を実施した。供試ウサギの両側の手根部近位を電動バリカンで剪毛し、一方の剪毛部にパルスオキシメータプローブ（新生児用粘着式センサLNOP Neo-L, マシモジャパン株式会社）の血流検出センサ部を設置し、パルスオキシメータ（Radical-7, マシモジャパン株式会社）に連結した。もう一方の手根部近位の剪毛部には、手根部近位全周長の40～50%の幅の動物用血圧計専用カフ（クリッターカフ, 株式会社AVS）を装着し、血圧測定用カフを動物用血圧計（petMAP graphic, 株式会社AVS）に連結した。動脈留置設置においては、耳介表面にリドカイン・プロピトカイン外用表面麻酔薬（エムラクリーム, 佐藤製薬株式会社, 東京）を塗布し、30分間静置した後に24Gカテーテル（スーパーキャス, メディキット株式会社, 東京）を耳中央動脈に留置した。

実験準備終了後、各供試ウサギの安静時の鎮静状態と呼吸循環測定項目のbaseline値を測定記録した。次に、アルファキサロン-HPCD（アルファキサン, Meiji Seikaファルマ株式会社）5 mg/kg（投与体積 0.5 mL/kg）を、IM群では2.5mLプラスチック製シリンジ（ニプロシリンジ, ニプロ株式会社）と25G注射針（TOP注射針, 株式会社トップ）を用いて供試ウサギの腰背部筋肉内へ、SC群には供試ウサギの頸部背側部皮下内へ、およびTN群には22G静脈留置カテーテルの外筒（サーフロー, テルモ株式会社）を用いて供試ウサギの鼻腔内にゆっくりと投与した。各薬物投与実験は無作為な順序で実施し、鎮静評価者には盲検とした。

薬物投与後には、各供試ウサギにおいて投与後 60 分目まで 5 分毎に鎮静状態を評価するとともに、呼吸循環測定項目を測定した。また、薬物投与前および薬物投与後 10、20、30、45 および 60 分目に動脈血を採取し、血液ガス分析を実施した。

2.2.3 鎮静状態の評価

供試ウサギの鎮静不動化状態の評価は、第一章と同様に、Tamura ら [43] が猫で用いた鎮静スコア (第一章の表1-1参照) を用いるとともに、至横臥時間および横臥持続時間を記録した。加えて、確認された有害事象の発生状況を記録した。

2.2.4 呼吸循環機能の測定項目

呼吸循環機能の測定項目として、供試ウサギの脈拍数、呼吸数、非観血的動脈血圧、経皮的動脈血酸素飽和度 (SpO_2)、動脈血酸素分圧 (PaO_2)、および動脈血二酸化炭素分圧 ($PaCO_2$) を測定した。脈拍数および SpO_2 は、手根部に設置したパルスオキシメータプローブとパルスオキシメータを用いて測定した。脈拍数が 240 回/分を超えた場合には、聴診器を用い心拍数を測定した。呼吸数は、胸郭の動きを観察して測定した。非観血的動脈血圧は、手根部に設置した動物用血圧計専用カフと動物用血圧計を用いてオシロメトリック法にて動脈血圧を2回測定し、2回の平均動脈血圧の平均値を非観血的平均動脈血圧 (NMABP) として記録した。動脈血の血液ガス分析では、耳中央動脈に留置した24Gカテーテルから動脈血をヘパリン化した注射シリンジに嫌氣的に採取し、血液ガス分析装置 (GEMプレミア 3000, アイ・エル・ジャパン, 会社所在地) を用いて PaO_2 および $PaCO_2$ を測定した。

2.2.5 統計学的分析

本実験の統計学的分析にはEZRソフトウェアを用いた [25]。データは中央値 (四分位範囲) で記載した。呼吸数の最低値、 PaO_2 の最低値、 $PaCO_2$ の最高値、鎮静スコアの最高値、至横臥時間、および横臥持続時間については、Kruskal-Wallis検定および多重比較検定としてSteel-Dwass法を用いて3群間で比較した。各群の鎮静スコア、呼吸循環機能の測定項目はKruskal-Wallis検定および多重比較検定としてSteel法を用いて各baseline値と比較した。これらの統計学分析において、いずれも $P < 0.05$ で統計学的有意差ありとした。

2.3 成績

2.3.1 薬物投与実験における供試ウサギの状態

IM群の供試ウサギのすべて、およびSC群の2羽には、アルファキサロン-HPCD投与時に薬物投与に対する抵抗や回避を認めた。TN群では、すべての供試ウサギにおいて鼻腔へのカテーテル挿入に対する抵抗や回避、ならびTN投与時にくしゃみを認めた。いずれの群も、すべての供試ウサギにおいて、アルファキサロン-HPCD投与に対する抵抗や回避は用手保定で制御でき、薬液投与を完了した。

2.3.2 鎮静状態の変化

表2-1に薬物投与後に横臥した供試ウサギの頭数、至横臥時間、横臥持続時間、および鎮静スコアの最大値を要約した。いずれの群においても、アルファキサロン-HPCD投与後にすべての供試ウサギが横臥した。至横臥時間の中央値(四分位範囲)は、IM群で4分(2.5-4)、SC群で8分(8-8)、およびTN群で0.5分(0.5-0.5)であり、至横臥時間はTN群、IM群、およびSC群の順で有意に短時間であった($P < 0.01$)。また、横臥持続時間の中央値(四分位範囲)は、IM群で47.5分間(43-57.3)、SC群で53分間(43.8-62.3)およびTN群で33.3分間(26-39.5)であり、TN群ではSC群と比較して有意に短時間であった($P = 0.04$)。

図2-1に、各群における鎮静スコア中央値の推移を示した。IM群では薬物投与後5~60分目、SC群では10~50分目、およびTN群では5~25分目にbaseline値と比較して有意に高い鎮静スコア値を示した(いずれも $P < 0.05$)。また、鎮静スコアの最大値の中央値(範囲)は、IM群で14、SC群で13、およびTN群で15であり、TN群において他の2群と比較して有意に高値であった($P < 0.01$)。

2.3.3 呼吸循環機能測定項目の変化

図2-2に、薬物投与後の呼吸循環機能測定項目の変化を示した。アルファキサロン-HPCD投与後にすべての群で自発呼吸が維持されたが、呼吸数は、IM群で投与後5~55分目、SC群で10~60分目、およびTN群で5~25分目にbaseline値と比較して有意に低下し(いずれも $P < 0.05$)、呼吸数最低値の中央値(四分位範囲)はIM群で30回/分(30-34.5)、SC群30回/分(27-34.5)、およびTN群で49回/分(34.5-53)であった。SpO

は測定値を得られない場合があったが、TN群で投与後5分中央値(四分位範囲)は50%(50-70)まで低下した。また、IM群1羽、SC群2羽、およびTN群4羽において薬物投与後45分目には動脈血の採取が不可能であったが、PaO₂最低値の中央値(四分位範囲)は、IM群で90.5mmHg(82.0-93.8)、SC群で90.5mmHg(87.8-92.5)、およびTN群で55.5mmHg(52.0-62.0)であり、TN群においてIM群およびSC群と比較して有意に低かった。一方、PaCO₂の最高値の中央値(四分位範囲)はIM群で39mmHg(36.5-40)、SC群で38mmHg(36.3-39)、およびTN群で38.5mmHg(36.5-39.8)であり、いずれの群間においても統計学的有意差は認められなかった。いずれの群においても、アルファキサロン-HPCDの投与後の脈拍数、およびNMABPには有意な変化は認められなかった。

2.3.4 有害事象の発生状況

アルファキサロン-HPCD投与中には、鼻腔内への刺激に関連すると考えられる行動変化(くしゃみ、TN投与を完了するために強い保定が必要になるなど)をTN群のすべて(100%)の供試ウサギに認めた。鎮静不動化からの回復期には、IM群の2羽(33%)およびTN群のすべて(100%)で眼振を認めた。また、SC群の1羽(17%)およびTN群の1羽(17%)の供試ウサギに振戦を認めた。

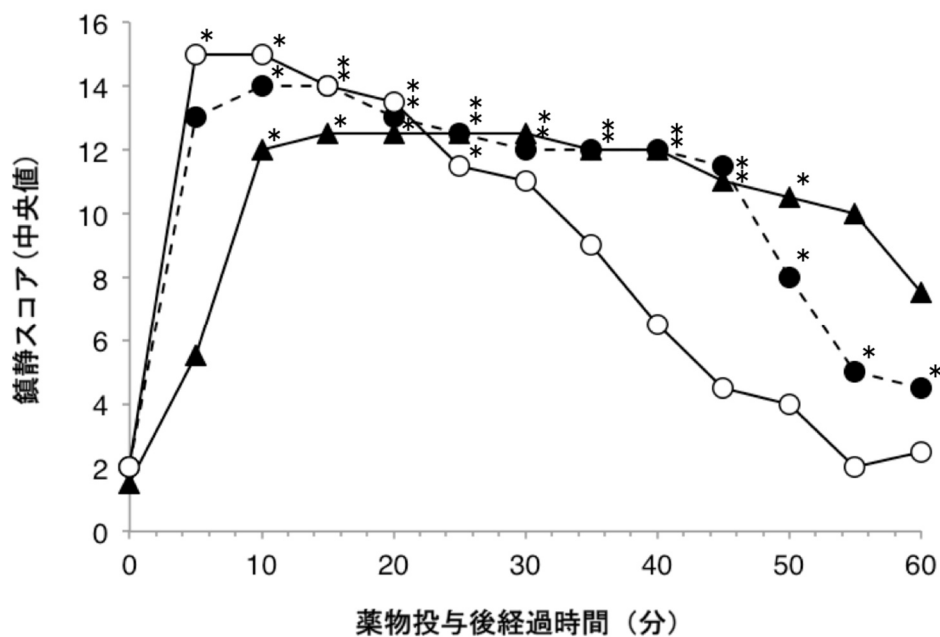


図 2-1 . 薬物投与後の鎮静スコアの推移

プロットは、IM 群(○)、SC 群(●)および TN 群(▲)の鎮静スコアの中央値を示す。鎮静状態は、自然姿勢(スコア 0~4)、全体的な態度(スコア 0~3)、横臥抵抗性(スコア 0~3)、顎緊張(スコア 0~2)および音への反応(スコア 0~4)の 5 項目についてスコア化して評価し、各スコアの合計を鎮静スコア(0~16)として評価した[43]。IM 群：供試ウサギ 6 羽にアルファキサロン-HPCD 5 mg/kg を筋肉内投与した。SC 群：供試ウサギ 6 羽にアルファキサロン-HPCD 5 mg/kg を皮下投与した。TN 群：供試ウサギ 6 羽にアルファキサロン-HPCD 5 mg/kg を経鼻投与した。

*：baseline の鎮静スコアと比較して有意差あり ($P < 0.05$)。

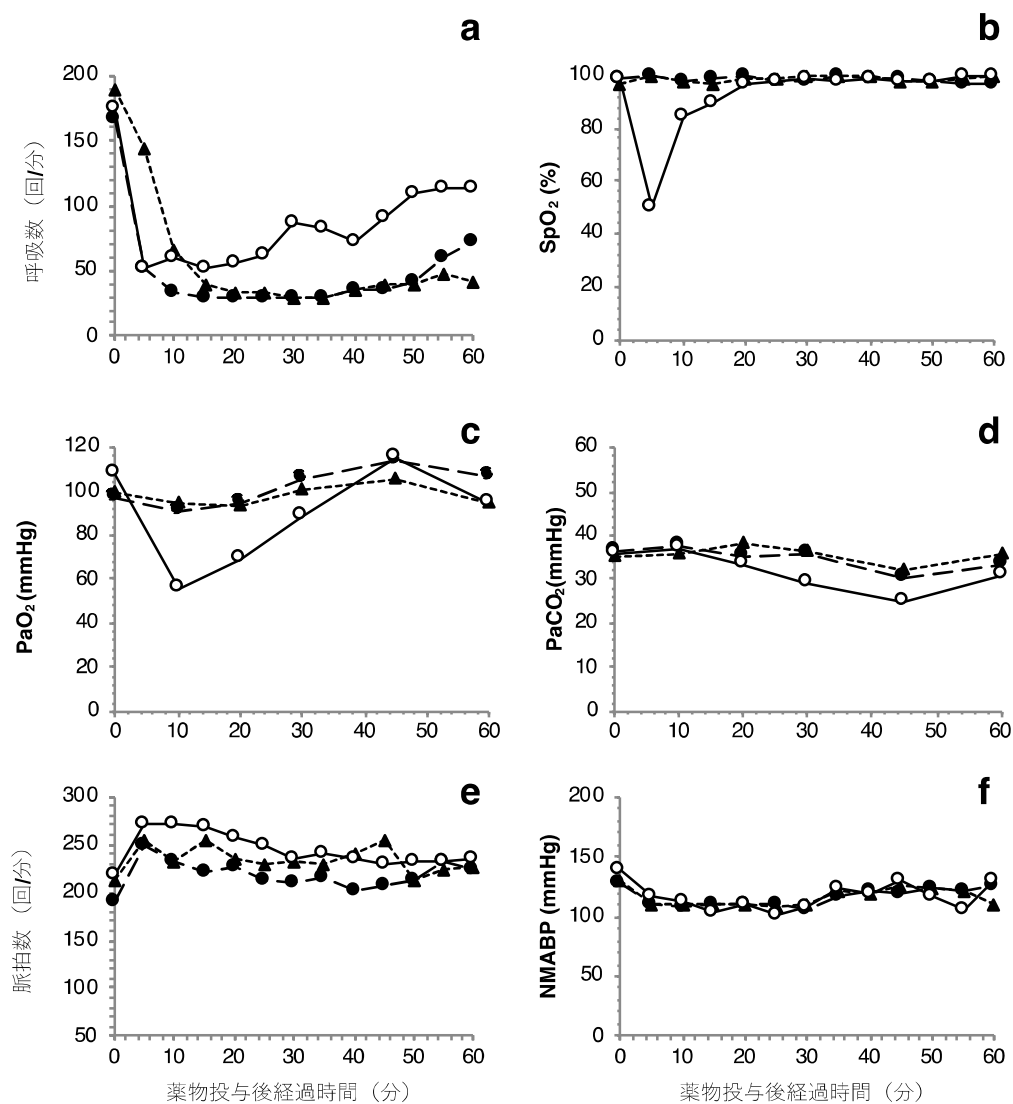


図 2-2 . 薬物投与後の呼吸循環機能測定項目の変化

プロットは、IM群(○)、SC群(●)、およびTN群(▲)の呼吸数(a)、経皮的動脈血酸素飽和度(SpO₂:b)、動脈血酸素分圧(PaO₂:c)、動脈血二酸化炭素分圧(PaCO₂:d)、脈拍数(e)、および平均動脈血圧(NMABP:f)の中央値を示す。IM群:供試ウサギ6羽にアルファキサロン-HPCD 5 mg/kg を筋肉内投与した。SC群:供試ウサギ6羽にアルファキサロン-HPCD 5 mg/kg を皮下投与した。TN群:供試ウサギ6羽にアルファキサロン-HPCD 5 mg/kg を経鼻投与した。

表2-1. 薬物投与後に横臥した供試ウサギの頭数、至横臥時間、横臥持続時間および鎮静スコアの最大値

| | IM群 | SC群 | TN群 |
|--------------|-----------------------|----------------|------------------------------|
| 横臥した供試ウサギ(羽) | 6 | 6 | 6 |
| 至横臥時間(分) | 4(2.5-4) ^b | 8 (8-8) | 0.5 (0.5-0.5) ^{a,b} |
| 横臥持続時間(分) | 47.5 (43-57.3) | 53 (43.8-62.3) | 35 (26-39.5) |
| 鎮静スコアの最大値 | 14 (13.3-14.8) | 13 (12.3-13.8) | 15 (15-15.8) |

至横臥時間、横臥持続時間、および鎮静スコアの最大値は、供試ウサギ6羽の中央値（四分位範囲）で示した。IM群：供試ウサギ6羽にアルファキサロン-HPCD 5 mg/kg を筋肉内投与した。SC群：供試ウサギ6羽にアルファキサロン-HPCD 5 mg/kg を皮下投与した。TN群：供試ウサギ6羽にアルファキサロン-HPCD 5 mg/kg を経鼻投与した。至横臥時間：アルファキサロン-HPCD投与後に横臥位抵抗性が消失するまでの時間。横臥持続時間：横臥位抵抗性が消失してから横臥位抵抗性が回復するまでの時間。a：IM群との有意差 $P < 0.05$ 。b：SC群との有意差 $P < 0.05$ 。

2.4 考 察

本章の結果から、健康なウサギにおいて、アルファキサロン-HPCD 5 mg/kg の IM 投与、SC 投与、あるいは TN 投与のいずれの投与経路でも横臥に至る深い鎮静不動化効果が得られることが明らかとなった。また、仮説のとおり、アルファキサロン-HPCD の TN 投与は IM 投与に匹敵する鎮静不動化を得られた。加えて、アルファキサロン-HPCD の TN 投与は、IM 投与および SC 投与よりも非常に速やかな作用発現を示すとともに、作用消失も速やかであった。一方で、アルファキサロン-HPCD 5 mg/kg を TN 投与したウサギでは、投与後に重度の低酸素血症を認めたことから、酸素吸入が必要であると考えられた。

本章では、アルファキサロン-HPCD 5 mg/kgをIM与したすべての供試ウサギが横臥して深い鎮静不動化を示し、顕著な呼吸循環抑制も認められなかった。また、アルファキサロン-HPCD投与時には、アルファキサロン-HPCDによる局所刺激ではなく、0.5 mL/kgという大きな投与体積を筋肉内に注入する際の違和感によると推測される反応を供試ウサギに認めた。これらの供試ウサギに認めた所見は、第一章でアルファキサロン-HPCD 5 mg/kgをIM投与した供試ウサギに認められたものと同様のものであり、本章においてもウサギにおけるアルファキサロン-HPCD IM投与の鎮静不動化効果を再現できた。

本章では、アルファキサロン-HPCD 5 mg/kg を TN 投与したすべての供試ウサギが投与開始後 30 秒程度で横臥となり、ウサギへのアルファキサロン-HPCD の TN 投与による作用発現は非常に速やかであった。また、アルファキサロン-HPCD 5 mg/kg の TN 投与後の鎮静効果持続時間は中央値 35 分間と短時間であり、ウサギへのアルファキサロン-HPCD の TN 投与による作用消失も速やかであった。ウサギへのアルファキサロン-HPCD の TN 投与による薬力学的作用発現は、IV 投与に匹敵する速やかさであった。薬物を TN 投与した際の薬力学的作用発現が速やかである理由に関しては、1) TN 投与された薬物は血流が豊富な鼻粘膜に覆われている鼻腔内に広範囲に拡散して全身循環血流へ速やかに吸収されること[19]、2) TN 投与された薬物は肝臓による初回通過効果を受けないことから高い薬物濃度で目的の作用部位に到達すること[2]、3) 鼻粘膜から吸収された薬物は血液脳関門による制限を受けず嗅覚神経と三叉神経を介して中枢へ作用すること[35]などが考えられている。加えて、アルファキサロン-HPCD

は、鼻粘膜からの吸収が促進するシクロデキストリンの一種の2-β-ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリンと包接体を作って水溶性とした製剤である[35]。さらに、アルファキサロン-HPCD 製剤自体は pH 6.05~7.0 であり、ウサギの鼻粘膜は pH 5.5~6.0 [33]であることから、投与環境における酸解離定数に基づくと TN 投与されたアルファキサロン-HPCD の鼻粘膜からの吸収促進に影響した可能性もある。これらのことから、TN 投与されたアルファキサロン-HPCD は、ウサギの鼻粘膜から急速に全身循環血流へ吸収され中枢神経系へ移行するとともに、その一部は血液脳関門を介することなく中枢神経系へ急速に移行することによって非常に速やかな鎮静不動化効果を発現したものと推測される。したがって、ウサギへのアルファキサロン-HPCD の TN 投与は、鎮静不動化に加え、迅速な麻酔導入法の投与経路となると期待できる。さらに、ウサギへのアルファキサロン-HPCD の TN 投与によって得られる薬力学的作用の用量依存性の変化ならびに臨床的至適投与量を調査する必要がある。

アルファキサロン-HPCD の単独 SC 投与による鎮静不動化効果に関する報告は乏しく、現状では、ボールニシキヘビ[52]、モルモット[13]、およびジュウシマツ[34]のみで報告が公表されている。また、アルファキサロン-HPCD の SC 投与に鎮静作用のある薬物を併用した検討も、猫[4,36]およびアカゲザル[6]における報告に過ぎない。本章では、ウサギにおいてアルファキサロン-HPCD 5 mg/kg の単独 SC 投与の薬力学的効果を観察し、供試ウサギが投与後 8 分目に横臥位に至り、比較的深い鎮静不動化効果が引き起こされることを示した。猫においては、アルファキサロン-HPCD 3 mg/kg とブトルファノール 0.2 mg/kg を混合 SC 投与することで投与後 45 分目にピークとなる鎮静状態を得られること[36]、およびアルファキサロン-HPCD 3 mg/kg とブプレノルフィン 0.02 mg/kg を混合 SC 投与することで中等度の鎮静状態を得られること[4]が報告されている。また、アカゲザルにおいて、アルファキサロン-HPCD 2 mg/kg、メデトミジン 20 μg/kg、およびミダゾラム 0.3 mg/kg を混合 SC 投与することで有害刺激に対する反応性が少なくとも 20 分間程度消失する深い鎮静状態を得られることが報告されている[6]。本章のウサギにおけるアルファキサロン-HPCD 5 mg/kg の単独 SC 投与による鎮静不動化効果は、これらの低用量アルファキサロン-HPCD (2~3mg/kg) の SC 投与に鎮静作用のある薬物を併用した猫[4,36]やアカゲザル[6]と同様であったと推測される。アルファキサロン-HPCD 5 mg/kg の SC 投与は、ウサギにおいて迅速な麻酔導入法の投与経路としては期待でないが、鎮静法として期待できる。

本章では、いずれの投与経路において、すべての供試ウサギにおいて顕著な脈拍数と血圧などの変化は認められなかった。一方、アルファキサロン-HPCD 5 mg/kg の IM 投与、SC 投与および TN 投与のいずれにおいても、投与後の呼吸数は有意に低下した。とくに、TN 投与においては顕著な低酸素血症を認めた。低酸素血症は、肺胞低換気、換気血流比不均衡、拡散障害、右左シャントおよび吸入酸素分圧の低下を原因とする病態によって生じる[28]。通常、平地（1気圧）で空気（21%酸素）を吸入している状況下では、 \sim が混在した状態で低酸素血症が引き起こされる[28]。また、呼吸不全は、ガス交換不全を原因とする I 型呼吸不全と、換気不全を原因とする II 型呼吸不全に分類される[28]。I 型呼吸不全では肺胞気-動脈血酸素分圧格差（ $A-aDO_2$ ）が開大するが、その病態は前述の換気血流比不均衡、拡散障害および右左シャントが原因となっており、 $PaCO_2$ の異常上昇は生じない[28]。一方、II 型呼吸不全の病態は肺胞低換気であり、高 $PaCO_2$ 血症を呈する[28]。本章では、アルファキサロン-HPCD 5 mg/kg TN 投与後の供試ウサギに、呼吸数低下と PaO_2 低下を認めたものの、 $PaCO_2$ には変化を認めなかったことから、II 型呼吸不全による低酸素血症であったと推測される。前述のように、TN 投与されたアルファキサロン-HPCD は、ウサギの鼻粘膜から急速に全身循環血流へ吸収され中枢神経系へ移行するとともに、一部は血液脳関門を介することなく中枢神経系へ急速に移行することで非常に速やかに呼吸抑制作用を発現した可能性がある。したがって、ウサギへアルファキサロン-HPCD 5 mg/kg の TN 投与後には、急速に脳幹に中枢を有する呼吸機能への大きな作用を及ぼし、強い呼吸抑制をもたらした可能性が推測される。一方、通常、ウサギは鼻孔のみで呼吸することから、TN 投与した薬液が鼻腔内を大きく占拠して物理的な換気量低下を引き起こした可能性や TN 投与された薬液が気管へ流入し気道閉塞が生じた可能性も否定できない。本章では、TN 投与した薬液がウサギの鼻腔内をどの程度占拠し、どの程度気道内へ流入し、それがどの程度物理的な閉塞を生じさせたかは明らかにはできていないことから、ウサギへの TN 投与における薬液の物理的分布とその影響についてさらなる検討が必要である。

アルファキサロン-HPCD 5 mg/kg (0.5 mL/kg) の IM 投与、SC 投与および TN 投与のいずれの投与経路においても、薬物投与時に供試ウサギは抵抗や回避行動を示した。本章においても、アルファキサロン-HPCD による局所刺激ではなく、0.5 mL/kg という大きな投与体積を注入する際の違和感に対する供試ウサギの反応性と推測された。薬

物の投与に第一章でも考察したように、IM 投与ではアルファキサロン-HPCD による局所刺激ではなく、大きな投与体積を筋肉内に注入する際の違和感がウサギに投与時の反応を引き起こしたものと推測された。SC 投与では、大きな投与体積を皮下に注入する際の違和感によるものと考えられたが、他の投与経路と比較して投与時の動物への負担が少ないと考えられた。TN 投与では、鼻腔へのカテーテル挿入による不快感を回避する行動やくしゃみが認められた。しかしながら、いずれの投与経路においても用手での保定には勞せず、比較的容易に投与実施でき、臨床応用は可能であると考えられた。また、TN 投与では、投与前に局所麻酔を鼻腔への噴霧することで鼻腔へのカテーテル挿入を容易にできると考えられる。

本章では、アルファキサロン-HPCD の投与により、一部の供試ウサギに眼振や振戦などの神経症状が認められた。犬では、アルファキサロン-HPCD 単独 IM 投与による鎮静不動化の回復初期に一時的な筋振戦と運動失調を高率に認めたと報告されている[44]。また、猫においても、アルファキサロン-HPCD の単独 IM 投与による鎮静不動化の回復初期に痙攣、パドリング、不快感、振戦または後弓反張などの有害事象と考えられる臨床症状が比較的高率に観察されている[43]。一方、ウサギでは、アルファキサロン-HPCD の単独 IM 投与による鎮静不動化の回復初期に眼振や振戦を認めたが、その頻度は比較的低いと報告されている[24,25]。ウサギに関するこれらの既報[22,24]と本章の結果からも、临床上健康なウサギでは、アルファキサロン-HPCD 投与による鎮静不動化の回復期における神経症状の発生率は少ないものと推察される。

以上のことから、健康なウサギにおいては、アルファキサロン-HPCD 5 mg/kg は IM 投与のみならず、SC 投与および TN 投与でも良好な鎮静効果を得られることが明らかとなった。とくに、アルファキサロン-HPCD の TN 投与は、IM 投与および SC 投与よりも非常に速やかな作用発現を示すとともに、作用消失も速やかであった。一方で、アルファキサロン-HPCD 5 mg/kg を TN 投与したウサギでは、投与後に重度の低酸素血症を認めたことから、酸素吸入が必要であると考えられた。

2.5 小 括

アルファキサロン-HPCDは、組織刺激性が少ない神経ステロイド系注射麻酔薬であり、IM投与やSC投与でも使用可能であり、様々な動物種でIM投与やSC投与による鎮静不動化効果が検討されている。一方で、鼻粘膜は、低分子のみならず高分子物質に対しても比較的高い透過性を示すとともに、嗅部から脳への薬物送達が期待できることから、近年、人医療において新たな薬物投与経路としてTN投与が注目され、鎮痛薬、全身麻酔薬および中枢神経系作用薬などにおいて検討されている。本章では、ウサギにおけるアルファキサロン-HPCD 製剤のIM投与、SC投与、またはTN投与で得られる鎮静不動化効果を比較した。

健康なウサギ6羽を最低1週間間隔で繰り返し用い、アルファキサロン-HPCD 5 mg/kg (0.5 mL/kg) を腰部背側筋肉内 (IM群)、頸部背側部皮下内 (SC群)、または鼻腔内 (TN群) に投与した。各群において、アルファキサロン-HPCD投与前の安静時 (baseline値) およびアルファキサロン-HPCD投与後5、10、15、20、25、30、45、60、75、90および120分目に供試ウサギの脈拍数、呼吸数、非観血的動脈血圧、SpO₂、PaO₂、およびPaCO₂を測定し、第一章と同様の鎮静スコア (合計0-16: 自発姿勢0-4, 横臥位抵抗性0-3, 音への反応性0-4, 顎緊張性0-2, 全体的な態度0-3) を用いて鎮静不動化効果を評価した。また、アルファキサロン-HPCD投与後の至横臥時間、横臥持続時間、および有害事象の発生状況を記録した。

いずれの群も、アルファキサロン-HPCD投与時に薬物投与に対する抵抗や回避を認めしたが、すべての供試ウサギにアルファキサロン-HPCD投与に対する抵抗や回避は用手保定で制御できた。すべての群の供試ウサギにおいて、アルファキサロン-HPCD 5 mg/kg投与後に横臥位となる深い鎮静不動化を得た。至横臥時間は、TN群で0.5分と最も速やかであり、横臥持続時間も35分間と最も短かった。アルファキサロン-HPCD 5mg/kg投与後には顕著な循環系機能の変化は認められなかったが、すべての群で呼吸数が有意に低下した。さらに、TN群では投与直後にSpO₂ 50%およびPaO₂ 55.5mmHgとなる顕著な酸素化能の低下を認めた。

以上のことから、健康なウサギにはアルファキサロン-HPCD 5mg/kgはいずれの投与経路で良好な鎮静効果を得られた。とくに、TN投与はウサギの鎮静不動化に加え、迅速な麻酔導入法の投与経路として期待できる。

第三章

ウサギにおける低用量アルファキサロンの経鼻投与による鎮静効果

3.1 小 緒

鼻粘膜は、低分子のみならず高分子物質に対しても比較的高い透過性を示すとともに、嗅部から脳への薬物送達が期待できることから、近年、人医療において新たな薬物投与経路として TN 投与が注目され、鎮痛薬、全身麻酔薬および中枢神経系作用薬などにおいて検討されている [19,42]。獣医療においても、犬猫のワクチネーションや全身麻酔薬などに TN 投与の有用性が検討されており [15,16,31,41,48,51]、ウサギにおいてはデクスメデトミジン-ミダゾラム-ブトルファノールの混合 TN 投与 [38,39] やメデトミジンとケタミンもしくは S (+) ケタミンの混合 TN 投与の有用性が報告されている [50]。

アルファキサロン-HPCD は、組織刺激性が極めて少なく、鼻粘膜の吸収促進作用を持つシクロデキストリンの一種の 2-β-ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリンと包接体を作って水溶性とした製剤であり、pH 6.05~7.0 とウサギの鼻粘膜環境 (pH5.5~6.0) よりやや高い pH を示すなど、ウサギの鼻粘膜から吸収されやすい性状を有しており、ウサギへの TN 投与に適している。実際に、第二章では、アルファキサロン-HPCD 5 mg/kg の TN 投与は、IM 投与および SC 投与よりも非常に速やかに鎮静不動化作用を発現するとともに、作用消失も速やかであることが明確になった。ウサギへのアルファキサロン-HPCD の TN 投与は、鎮静不動化に加え、迅速な麻酔導入法の投与経路となると期待できる。一方で、アルファキサロン-HPCD 5 mg/kg を TN 投与したウサギでは、投与後に重度の低酸素血症を認めた。以上のことから、ウサギへのアルファキサロン-HPCD の TN 投与の臨床的至適投与量を検討する必要がある。

本章では、健康なウサギにアルファキサロン-HPCD を 1、2 および 4 mg/kg で TN 投与して鎮静不動化効果および呼吸循環系への影響を観察し、臨床的至適投与量を確定することを目指した。

3.2 材料および方法

3.2.1 供試ウサギ

臨床上健康なウサギ 雌8羽(日本白色種,年齢6-24ヶ月齢,体重3.2-5.0kg)を最低1週間間隔で繰り返し用い、4回の薬液投与実験を実施した。各薬液投与実験において、それぞれの供試ウサギに生理食塩液0.4 mL/kgをTN投与した群を対照群とし、アルファキサロン 1 mg/kg、2 mg/kgまたは4 mg/kgをTN投与した群をそれぞれTN1群、TN2群、および TN4群とした。本研究は、本学動物実験委員会の承認を得て実施した(動物実験計画承認番号VH18A11)。

3.2.2 実験プロトコール

すべての供試ウサギには、実験開始まで絶食や飲水制限を実施しなかった。実験準備として、第二章と同様に、パルスオキシメータプローブの設置、非観血的血圧測定用カフの設置、および耳中央動脈へのカテーテル留置を実施した(第二章 2.2.2 実験プロトコール参照)。実験準備終了後、各供試ウサギの安静時の鎮静状態と呼吸循環測定項目のbaseline値を測定記録した。続いて、2.5mL プラスチック製シリンジ(ニプロシリンジ,ニプロ株式会社)および22G 静脈留置針カテーテル(サーフロー,テルモ株式会社)の外筒を用い、薬液を供試ウサギの鼻腔内に30秒以上かけてゆっくりとTN投与した。具体的には、対照群では、生理食塩液(テルモ生食,テルモ株式会社)を0.4 mL/kg、TN1群、TN2群、およびTN4群ではアルファキサロン-HPCD 10 mg/mLを含有する製剤(アルファキサン, Meiji Seikaファルマ株式会社)を0.1 mL/kg、0.2 mL/kg、および0.4 mL/kgをTN投与した。TN投与直後には、供試ウサギの頭部を挙上した状態で30秒間維持した。薬液投与後には、投与後60分目まで5分毎に供試ウサギの鎮静状態を評価し、呼吸循環機能測定項目を測定した。また、薬液投与前(baseline値)および薬液投与後10、20、30、40、50および60分目動脈血を採取し、血液ガス分析を実施した。

3.2.3 鎮静状態の評価

供試ウサギの鎮静不動化状態の評価は、第一章と同様に、Tamura ら [43] が猫で用いた鎮静スコア (第一章の表1-1参照) を用いるとともに、至横臥時間および横臥持続時間を記録した。加えて、確認された有害事象の発生状況を記録した。

3.2.4 呼吸循環機能の評価

呼吸循環機能の測定項目として、第二章と同様に、供試ウサギの脈拍数、呼吸数、非観血的動脈血圧、 SpO_2 、 PaO_2 、および $PaCO_2$ を測定した (第二章 2.2.4 呼吸循環機能の測定項目参照)。

3.2.5 統計学的分析

データは中央値 (四分位範囲) で記載した。呼吸数の最低値、 SpO_2 の最低値、 PaO_2 の最低値、 $PaCO_2$ の最高値、鎮静スコアの最高値、至横臥時間、および横臥持続時間については、Kruskal-Wallis検定および多重比較検定としてSteel-Dwass法を用いて3群間で比較した。各群の鎮静スコア、呼吸循環機能の測定項目はKruskal-Wallis検定および多重比較検定としてSteel法を用いて各baseline値と比較した。これらの統計学分析において、いずれも $P < 0.05$ で統計学的有意差ありとした。

3.3 成績

3.3.1 薬物投与実験における供試ウサギの状態

表3-1にアルファキサロン-HPCD投与後に横臥した供試ウサギの頭数、至横臥時間、および横臥持続時間を要約した。TN2群および TN4群において、アルファキサロン-HPCD投与後にすべての供試ウサギが横臥した。TN1群では、アルファキサロン-HPCD投与後にすべての供試ウサギが鎮静効果を認めたものの、供試ウサギ8羽中5羽は横臥状態に至らなかった。至横臥時間は、TN2群（中央値30秒）およびTN4群（中央値30秒）において、TN1群（中央値75秒,3羽のデータ）に比較して有意に短かった($P < 0.01$)。また、横臥持続時間は、すべての群間に有意な差を認め($P < 0.05$)、アルファキサロン-HPCDの投与量の用依存性に延長が認められた。

3.3.2 鎮静状態の変化

図3-1に各群における鎮静スコアの中央値の推移を示した。鎮静スコアは、対照群以外でTN投与後5分目にピーク値を示し、TN2群でTN投与後5～15分目およびTN4群で5～20分目にbaseline値と比較して有意に高値を示した（いずれも $P < 0.01$ ）。また、最大鎮静スコアの中央値（四分位範囲）は、TN1群でスコア8(6.5-9.5)、TN2群でスコア14(13.5-15)、およびTN4群でスコア15(13.5-15)を示し、最大鎮静スコアはTN1群、TN2群、およびTN4群で対照群に比較して有意に高値を示した。さらに、TN2群およびTN4群では、TN1群と比較して有意に高値であった（それぞれ $P < 0.01$ ）。

3.3.3 呼吸循環機能測定項目の変化

図3-2に薬液投与後の呼吸循環機能測定項目の変化を示した。いずれの群においても、アルファキサロン-HPCD TN投与後の脈拍数およびNMABP には有意な変化は認められなかった。

薬液投与後にはすべての群で自発呼吸が維持されたが、呼吸数はTN1群で薬物投与後5～15分目、TN2群で5～10分目、およびTN4群で5～25分目に各群のbaseline値と比較して有意に低下し（いずれも $P < 0.05$ ）、最低呼吸数の中央値

(四分位範囲)は対照群、TN1群、TN2群およびTN4群でそれぞれ177回/分(157.5-196.5)、144回/分(130.5-151.5)、60回/分(46.5-61.5)および57回/分(54-66)であり、TN2群およびTN4群において対照群との間に統計学的有意差(いずれも $P < 0.01$)を認め、TN2群およびTN4群ではTN1群より統計学的に有意な呼吸数低下を認めた(いずれも $P < 0.01$)。SpO₂は測定値を得られない場合が認められたものの、SpO₂ 95%未満の低酸素血症を示唆する値が対照群で5羽、TN1群で5羽、TN2群で7羽およびTN4群で8羽に認めた。最低SpO₂値の中央値(四分位範囲)は、対照群で93%(90.0-95.3)、TN1群で94%(92.3-95.3)、TN2群で90%(80.0-93.0)、およびTN4群で72.5%(69.3-84.5)であり、TN4群で対照群およびTN1群と比較して有意な低値を認めた(それぞれ $P < 0.05$)。また、TN4群では、アルファキサロン-HPCD TN投与後5分目および15分目のSpO₂に、baseline値と比較して有意な低下を認めた($P < 0.05$)。さらに、各群のPaO₂は対称群を除くすべての群において薬液TN投与後10分目に低値を示し、その最低値(四分位範囲)は対照群で74mmHg(67.8-85.3)、TN1群で74mmHg(67.5-82.3)、TN2群で69.5mmHg(62.5-76.5)、およびTN4群で53mmHg(47.0-60.0)であり、TN4群と他の群との間に有意差を認めた($P < 0.05$)。また、TN4群では投与後10分目のPaO₂にbaseline値と比較して有意な低下を認めた($P < 0.05$)。一方、PaCO₂の最高値(四分位範囲)は対照群で32.5mmHg(30.1-35.1)、TN1群で34mmHg(31.5-35.3)、TN2群で33mmHg(31.5-37.0)、およびTN4群で34.5mmHg(30.5-35.8)であり、各群間において統計学的に有意な差は認められなかった。

3.3.4 有害事象の発生状況

薬液のTN投与中には、各群においてすべての供試ウサギに鼻腔内への刺激に関連すると考えられる行動変化(くしゃみ、強い保定が必要になるなど)を認めしたが、用手保定にて準備した薬用量の投与ならびに投与後の保定を完遂できた。鎮静不動化の回復期には、TN1群の1羽(13%)、TN2群の2羽(25%)、およびTN4群の4羽(50%)において眼振を認め、TN2群の1羽(13%)およびTN4群の3羽(38%)で振戦を認めた。これらの有害事象は、いずれも自然姿勢が起立または伏臥位となるまでに消失し、鎮静不動化状態から完全に覚醒した後は、すべての供試ウサギがアルファキサロン-HPCD 投与前の状態へ回復した。

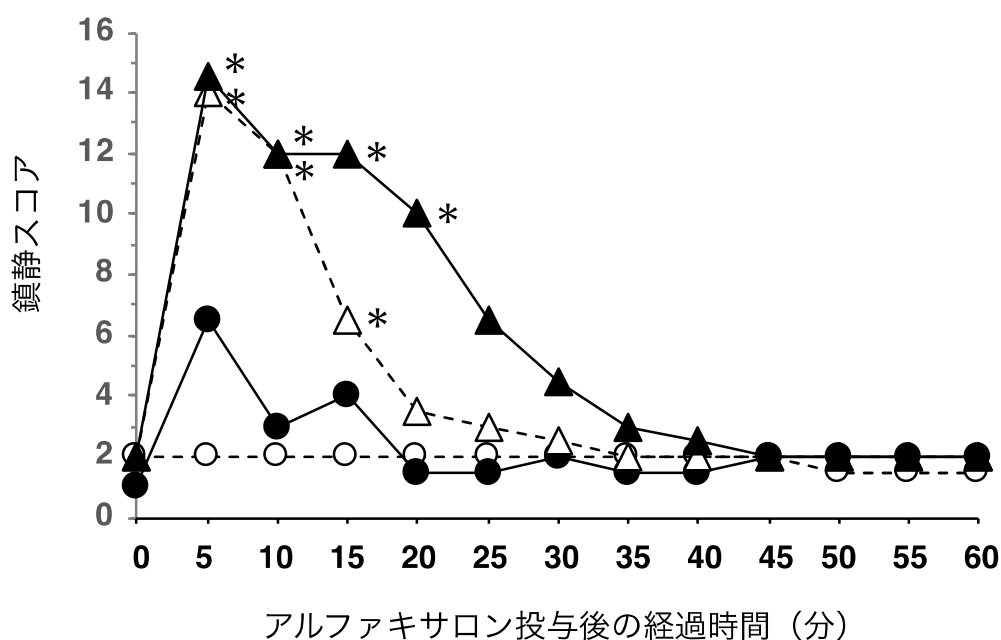


図3-1 . 薬物経鼻投与後の鎮静スコアの推移

プロットは、対照群(○)、TN1群(●)、TN2群(△)、およびTN4群(▲)の鎮静スコアの中央値を示す。鎮静状態は全体的な態度(スコア0~4)、横臥位抵抗性(スコア0~3)、顎緊張(スコア0~2)および音への反応(スコア0~4)の5項目についてスコア化し、各スコアの合計を鎮静スコア(0~16)として評価した[24,41]。対照群：供試ウサギ8羽に生理食塩液0.4mL/kgを経鼻(TN)投与した群。TN1群：供試ウサギ8羽にアルファキサロン-HPCD 1 mg/kgをTN投与した群。TN2群：供試ウサギ8羽にアルファキサロン-HPCD 2 mg/kgをTN投与した群。TN4群：供試ウサギ8羽にアルファキサロン-HPCD 4 mg/kgをTN投与した群。
*：baselineの鎮静スコアと比較して統計学的有意差($P < 0.05$)あり。

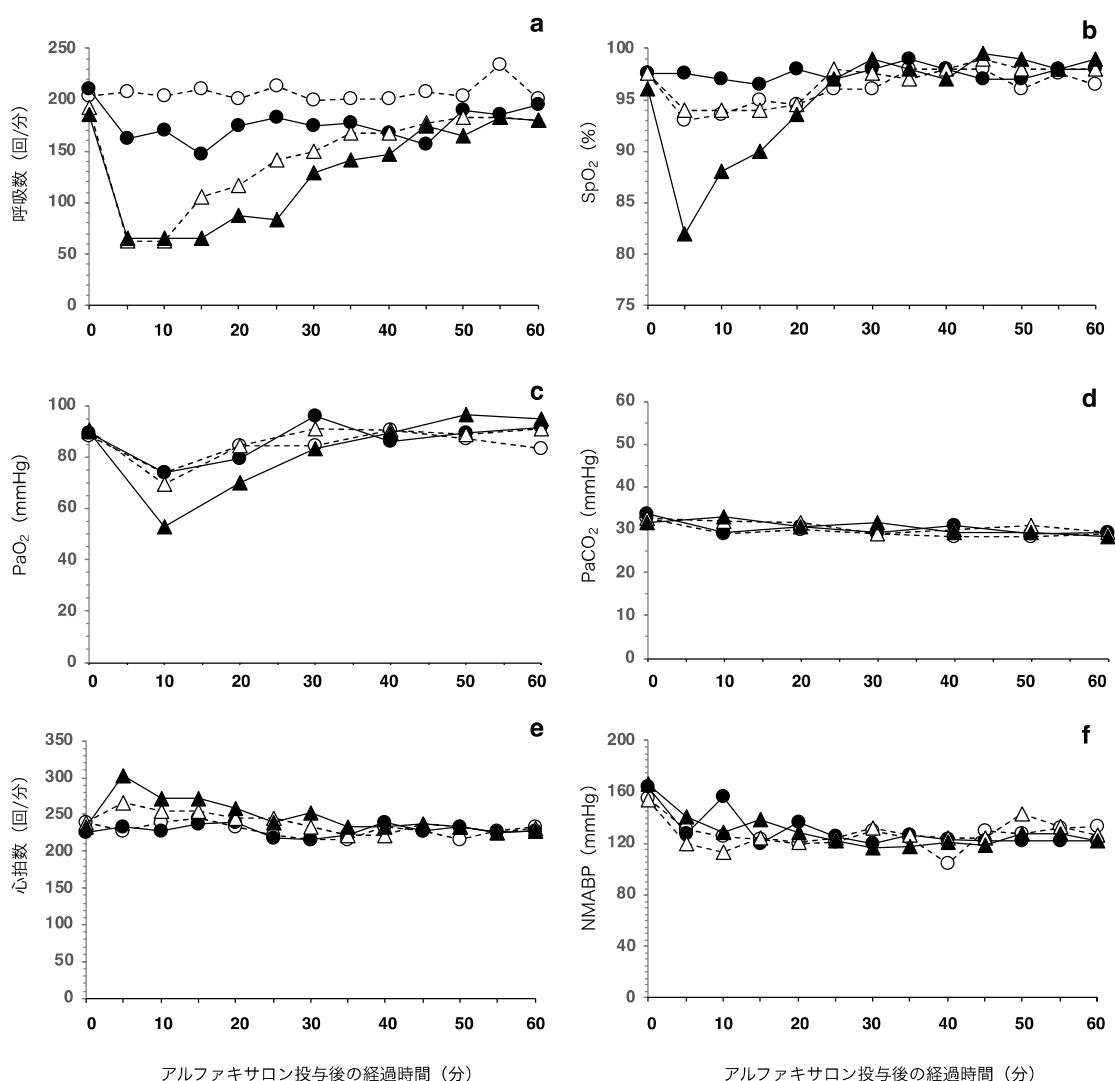


図3-2. アルファキサロン-HPCD TN投与後の呼吸循環機能測定項目の変化

プロットは対照群(○)、TN1群(●)、TN2群(△)、およびTN4群(▲)の呼吸数(a)、経皮的動脈血酸素飽和度(SpO₂: b)、動脈血酸素分圧(PaO₂: c)、動脈血二酸化炭素分圧(PaCO₂: d)、脈拍数(e)、および非観血的平均動脈血圧(NMABP: f)の中央値を示す。対照群: 供試ウサギ8羽に生理食塩液0.4mL/kgを経鼻(TN)投与した群。TN1群: 供試ウサギ8羽にアルファキサロン-HPCD1 mg/kgをTN投与した群。TN2群: 供試ウサギ8羽にアルファキサロン-HPCD2 mg/kgをTN投与した群。TN4群: 供試ウサギ8羽にアルファキサロン-HPCD4 mg/kgをTN投与した群。

表3-1 . アルファキサロン-HPCD TN投与後に横臥した供試ウサギの頭数、至横臥時間、および横臥持続時間

| | 対照群 | TN1群 | TN2群 | TN4群 |
|--------------|---------|----------------------|---------------------------|---------------------------|
| 横臥した供試ウサギ(羽) | 0 | 3 | 8 | 8 |
| 至横臥時間(秒) | 0 (0-0) | 120 (75-120) | 30 (30-30) ^{aa} | 30 (30-30) ^{aa} |
| 横臥持続時間(分) | 0 (0-0) | 6 (3-7) ^b | 14.5 (12-19) ^a | 26 (22-30) ^{a,b} |

至横臥時間および横臥持続時間は、中央値(四分位範囲)で示した。対照群：供試ウサギ8羽に生理食塩液0.4mL/kgを経鼻(TN)投与した群。TN1群：供試ウサギ8羽にアルファキサロン-HPCD 1 mg/kgをTN投与した群。TN2群：供試ウサギ8羽にアルファキサロン-HPCD 2 mg/kgをTN投与した群。TN4群：供試ウサギ8羽にアルファキサロン-HPCD 4 mg/kgをTN投与した群。至横臥時間：アルファキサロン-HPCD TN投与後に横臥位抵抗性が消失するまでの時間。横臥持続時間：横臥位抵抗性が消失してから横臥位抵抗性が回復するまでの時間。a：TN1群との間に統計学的有意差あり($P < 0.05$)。aa：TN1群との間に統計学的有意差あり($P < 0.01$)。b：TN2群との間に統計学的有意差あり($P < 0.05$)

3.4 考 察

本章の結果から、健康なウサギにアルファキサロン-HPCDをTN投与することで速やかに用量依存性の鎮静不動化を得られることが明らかになった。今回、TN投与したアルファキサロン-HPCDの薬用量のうち、2および4 mg/kgではすべての供試ウサギが投与後30秒で横臥に至る深い鎮静不動化効果を示したが、最低用量の1 mg/kgでは鎮静効果が得られたものの供試ウサギ8羽のうち3羽でしか横臥位に至らなかった。一方、TN投与後にはアルファキサロン-HPCDの用量依存性に呼吸抑制を認め、4 mg/kg では顕著な低酸素血症を認めた。以上のことより、健康なウサギではアルファキサロン-HPCD 2 mg/kgが適正なTN投与量であると結論された。

本章では、アルファキサロン-HPCD 2および4 mg/kgをTN投与したすべての供試ウサギが30秒程度で横臥し、TN投与によって速やかに横臥に至る深い鎮静不動化効果を認めた。第一章[25]および第二章では、アルファキサロン-HPCD 5mg/kgをIM投与した供試ウサギがIM投与後に横臥位に至るにはいずれも4分間を要しており、高用量のアルファキサロン-HPCDのIM投与を検討したHuynhら[24]の報告においても4、6および10 mg/kg IM投与後に横臥位に至った時間はそれぞれ3.1分、2.4分、および2.3分と報告されている。したがって、ウサギにおけるアルファキサロン-HPCDのTN投与では、IM投与より低用量で非常に迅速な鎮静不動化効果を得られることが明らかになった。

鼻粘膜は表面積が広く血流が豊富であることから、TN投与された薬物は鼻腔内に広範囲に拡散することで、全身循環血流へ速やかに吸収される[19]。また、TN投与では肝臓による初回通過効果を受けないことから、高い薬物濃度で作用部位まで薬物が到達する[19]。さらに、鼻粘膜から吸収された薬物はその一部が嗅覚神経と三叉神経を介して中枢へ作用し、血液脳関門による制限を受けないと考えられている[35]。加えて、アルファキサロン-HPCDは、鼻粘膜からの吸収を促進するシクロデキストリンの一種の2-β-ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリンと包接体を作って水溶性とした製剤であることや、アルファキサロン-HPCD自体のpHがウサギの鼻粘膜のpHよりやや高いことが、ウサギの鼻粘膜からアルファキサロン-HPCDの吸収を促進させたことも推測できる。

これらのことから、アルファキサロン-HPCD は TN 投与に適した物理化学的性状を有しており、ウサギに TN 投与したアルファキサロン-HPCD は鼻粘膜から急速に吸収され、一部は血液脳関門を介することなく中枢神経系へ急速に移行し、非常に速やかな鎮静不動化効果を生じたものと推測される。ウサギへのアルファキサロン-HPCD の TN 投与は、鎮静不動化に加え、2 mg/kg と低い投与量でも迅速な麻酔導入法の投与経路となると期待できる

本章では、いずれの群においても、すべての供試ウサギでアルファキサロン-HPCD TN 投与後に自発呼吸は維持されていたものの、呼吸数はアルファキサロン-HPCD の投与量依存性に低下し、とくに、アルファキサロン-HPCD 4 mg/kg の TN 投与において、顕著な SpO₂ の低下と PaO₂ の低下を呈する低酸素血症を認めた。しかしながら、生理食塩液を TN 投与した供試ウサギにおいても、アルファキサロン-HPCD 2 mg/kg を TN 投与した供試ウサギと同程度の SpO₂ および PaO₂ の低下を示し、軽度の低酸素血症を呈した。すなわち、鼻呼吸するウサギに対して TN 投与した薬液が鼻腔内を占拠することで、物理的な換気量低下を引き起こした可能性がある。また、TN 投与した薬液の一部が気管へ流入して一時的に気道閉塞を引き起こした可能性も否定できない。第二章でも考察したように、低酸素血症は、肺胞低換気、換気血流比不均衡、拡散障害、右左シャント、吸入酸素分圧の低下といった病態生理によって生じる [28]。通常、1 気圧 21% 酸素濃度の平地では ~ が混在した状態で呼吸不全を引き起こす。呼吸不全は、I 型呼吸不全（ガス交換不全）と II 型呼吸不全（換気不全）に分類される。I 型呼吸不全では、肺胞気-動脈血酸素分圧格差（A-aDO₂）が開大するが、その病態は換気血流比不均衡、拡散障害、および右左シャントであり、PaCO₂ が異常に蓄積することはない [28]。また、II 型呼吸不全の病態は肺胞低換気であり、高 PaCO₂ 血症を呈す [28]。本章では、アルファキサロン-HPCD を TN 投与後の供試ウサギに、呼吸数の低下と PaO₂ 低下を認めたが、PaCO₂ には有意な変化を認めなかったことから、I 型呼吸不全による低酸素血症であったと推測される。また、生理食塩液を TN 投与した供試ウサギを含むすべての供試ウサギにおいて TN 投与した薬液による物理的な気道閉塞で拡散障害および右左シャントが引き起こされた結果、換気血流比不均衡が生じ、低酸素血症を生じたと推測される。さらに、アルファキサロン-HPCD 4 mg/kg

を TN 投与した供試ウサギでは、アルファキサロン-HPCD による呼吸数低下で換気血流比不均衡が著しくなり、顕著な低酸素血症を生じたと推測される。ウサギへの TN 投与では、アルファキサロン-HPCD の TN 投与に限らず、投与前に酸素供給による前酸素化ならびに投与中および投与後の酸素給与が推奨される。

本章では、いずれの薬用量のアルファキサロン-HPCD の TN 投与後においても、供試ウサギの脈拍数および NMABP に有意な変化は認められず、低血圧を示す供試ウサギも認められなかった。第二章においても、アルファキサロン-HPCD 5 mg/kg を TN 投与した供試ウサギにおいても脈拍数および血圧に有意な変化を認めていない。また、アルファキサロン-HPCD を IM 投与したウサギにおいも、明らかな循環抑制は観察されていない[24,25]。アルファキサロン-HPCD は、今回の検討の TN 投与を含むあらゆる投与経路ならびに様々な投与量において、ウサギの循環系機能への影響は少ないものと推測される。しかしながら、本章も含め、心拍出量測定や観血的動脈血圧測定などの詳細な循環系機能の評価は実施されていないことには、留意しなければならない。

本章では、すべての供試ウサギにおいて、TN 投与時に鼻腔内へのカテーテル挿入により生じた不快感を回避する行動と考えられる抵抗が認められた。一方、アルファキサロン-HPCD 製剤の TN 投与完了後ならびに鎮静不動化回復期には、薬液の鼻腔への刺激に起因し発生する可能性のあるくしゃみ等の行動は認められなかった。アルファキサロン-HPCD には組織刺激性がないことから、鼻腔内へカテーテルを挿入する際の違和感を緩和できれば、ウサギへのアルファキサロン-HPCD の TN 投与に抵抗を示すことなく容易に実施できると考えられる。具体的な例として、カテーテル鼻腔内挿入前に鼻腔内への局所麻酔薬投与によって TN 投与を容易に実施できるようになると考えられる。

本章では、アルファキサロン-HPCD の TN 投与によって得られた鎮静不動化状態からの回復期において、一部の供試ウサギに眼振や振戦などの有害事象と考えられる神経症状を認めた。犬において、アルファキサロン-HPCD 単独 IM 投与による鎮静不動化の回復初期に一時的な筋振戦と運動失調が高率に認められたと報告されている[44]。また、猫においても、アルファキサロン-HPCD の単独 IM 投与による鎮静不動化の回復初期に痙攣、パドリング、不快感、振戦または後弓反張などの有害事象が比較的高率に観察されている[43]。一方、ウサギでは、ア

ルファキサロン-HPCDの単独IM投与による鎮静不動化の回復初期に眼振や振戦を認めたが、その頻度は比較的低いと報告されている[24,25]。このことは、第一章および第二章においても、同様であった。ウサギにおけるアルファキサロン-HPCD投与に関連する神経症状の発生頻度は低いが、アルファキサロン-HPCD使用の際には、回復時の神経症状発生に対し十分な看視体制を整え、症状への対応の準備をする必要がある。

以上の結果から、ウサギにアルファキサロン-HPCDをTN投与することによって速やかに用量依存性の鎮静不動化効果を得られ、健康なウサギでは、アルファキサロン-HPCD 2 mg/kg が適正なTN投与量であると結論された。ウサギへのアルファキサロン-HPCDをTN投与する際には、低酸素血症を防止するための酸素供給と注意深いモニタリングが推奨される。

3.5 小 括

鼻粘膜は、低分子のみならず高分子物質に対しても比較的高い透過性を示すとともに、嗅部から脳への薬物送達が可能であることから、近年、人医療において新たな薬物投与経路として TN 投与が注目されている [19, 42]。アルファキサロン-HPCD は、組織刺激性が極めて少なく、ウサギの鼻粘膜から吸収されやすい性状を有し、ウサギへの TN 投与に適している。実際に、第二章において、アルファキサロン-HPCD 5 mg/kg の TN 投与は非常に速やかに鎮静不動化作用を発現するとともに、作用消失も速やかであった。一方で、アルファキサロン-HPCD 5 mg/kg を TN 投与後に重度の低酸素血症を認めた。本章では、健康なウサギにアルファキサロン-HPCD を TN 投与する際の臨床的至適投与量を確定することを目指した。

健康なウサギ8羽を最低1週間間隔で繰り返し用い、生理食塩液（対照群）、アルファキサロン-HPCD 1 mg/kg（TN1群）、2 mg/kg（TN2群）、または4 mg/kg（TN4群）を鼻腔内にTN投与した。各群において、薬液投与前の安静時（baseline 値）および投与後5、10、15、20、25、30、45、60、75、90および120分目に供試ウサギの脈拍数、呼吸数、非観血的動脈血圧、SpO₂、PaO₂およびPaCO₂を測定し、第一章および第二章と同様の鎮静スコア（合計0-16：自発姿勢0-4，横臥位抵抗性0-3，音への反応性0-4，顎緊張性0-2，全体的な態度0-3）を用いて鎮静不動化効果を評価した。また、薬液投与後の至横臥時間、横臥持続時間および有害事象の発生状況を記録した。

アルファキサロン-HPCDのTN投与後にTN1群では供試ウサギ3羽が横臥し、TN2群およびTN4群ではTN投与後30秒間ですべての供試ウサギが横臥した。横臥持続時間の中央値は、TN1群で6分間、TN2群で14.5分間およびTN4群で26分間であり、アルファキサロン-HPCDの用量依存性に延長した。また、最大鎮静スコアの中央値は、TN1群でスコア4、TN2群でスコア14およびALFX-4群でスコア15であり、アルファキサロン-HPCDの用量依存性に深い鎮静を得られた。

薬液投与後にはすべての群で自発呼吸が維持されたが、TN1群で薬物投与後5～15分目、TN2群で5～10分目、およびTN4群で5～25分目に呼吸数は低下した。SpO₂ 95%未満の低酸素血症を対照群で5羽、TN1群で5羽、TN2群で7羽およびTN4

群で8羽に認めた。さらに、各群のPaO₂は薬液のTN投与後10分目に低値を示し、その最低値の中央値は対照群で74mmHg、TN1群で74mmHg、TN2群で69.5mmHgおよびTN4群で53mmHgであった。鎮静不動化の回復期には、一過性の眼振をTN1群に1羽、TN2群に2羽、およびTN4群に4羽で認め、一過性の振戦をTN2群1羽およびTN4群3羽に認めた。

以上の結果から、ウサギにアルファキサロン-HPCDをTN投与することによって速やかに用量依存性の鎮静不動化効果を得られ、健康なウサギでは、アルファキサロン-HPCD 2 mg/kg が適正なTN投与量であると結論された。ウサギへのアルファキサロン-HPCDをTN投与する際には、低酸素血症を防止するため、酸素供給が推奨される。

総 括

ウサギは、実験動物として研究分野に広く用いられるとともに、食用動物、または愛玩動物として飼育され、伴侶動物としても認識されつつある。しかし、犬猫と比較するとウサギの獣医療は未だ発展途上の分野であり、多くの検討課題が山積した状況にある。とくに、獣医麻酔の成書に示されているウサギの鎮静薬や麻酔薬の投与量の多くは実験動物に強い効果を得られるものであり、臨床例に適した情報とは言い難い場合も多い。また、ウサギでは、ケタミンとキシラジンやメドミジンの混合 IM 投与による鎮静不動化法が広く用いられてきたが、わが国では 2007 年にケタミンが麻薬に指定されたことから、ケタミンを使用しない IM 投与による注射麻酔法の開発が喫緊の課題となっている。

アルファキサロンはステロイド系注射麻酔薬であり、近年開発された 2-ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン (HPCD) と包接体を作って水溶性とした製剤は組織刺激性が極めて少なく、多くの動物種において筋肉内 (IM) 投与や皮下 (SC) 投与による鎮静不動化の効果が検討されている。また、組織刺激性が極めて少ないアルファキサロン-HPCD は、全身作用薬の新たな薬剤投与経路として注目されている経鼻 (TN) 投与にも適していると考えられる。しかしながら、現時点において、アルファキサロン-HPCD 製剤を 4 mg/kg 未満の低用量で IM 投与した際の鎮静不動化効果は未だ検討されておらず、TN 投与についての検討は皆無である。そこで、本研究では、まず、第一章でウサギにおいて低用量のアルファキサロン-HPCD の IM 投与で得られる鎮静不動化効果を検討した。次に、第二章では、アルファキサロン-HPCD のウサギにおいて IM、SC、および TN 投与によって得られる鎮静不動化効果を比較検討した。さらに、第三章ではウサギにおけるアルファキサロン-HPCD の TN 投与の至適投与量を検討した。

第一章では、健康なウサギ (日本白色種, 雌, 6羽) を最低1週間間隔で繰り返し用い、アルファキサロン-HPCD 1 mg/kg (IM1群)、2.5 mg/kg (IM2.5群)、または5 mg/kg (IM5群) を腰部背側筋肉内に投与した。アルファキサロン-HPCD 投与後には、IM2.5群およびIM5群ではすべての供試ウサギが横臥したが、IM1群では3羽が横臥しなかった。アルファキサロン-HPCD 1~5 mg/kg IMによる鎮

静不動化効果は用量依存性であり、2.5 mg/kgで確実に横臥位となる深い鎮静不動化効果を得られた。また、アルファキサロン-HPCD 1~5 mg/kg IMでは顕著な呼吸循環抑制は認められなかった。健康なウサギでは、アルファキサロン-HPCD 1~5 mg/kgの低用量IM投与でも用量依存性の鎮静不動化効果を得られ、ウサギの短時間の鎮静不動化は2.5 mg/kgのIM投与が適していると結論された。

第二章では、健康なウサギ（日本白色種，雌，6羽）を最低1週間間隔で繰り返し使い、アルファキサロン-HPCD 5 mg/kg（0.5 mL/kg）を腰部背側筋肉内（IM群）、頸部背側部皮下内（SC群）または鼻腔内（TN群）に投与した。すべての群の供試ウサギにおいて、アルファキサロン-HPCD 5 mg/kg投与後に横臥位となる深い鎮静不動化を得た。至横臥時間は、TN群で0.5分と最も速やかであり、横臥持続時間も35分間と最も短かった。アルファキサロン-HPCD投与後には顕著な循環系機能の変化は認められなかったが、すべての群で呼吸数が有意に低下した。さらに、TN群では投与直後に顕著な低酸素血症を認めた。アルファキサロン-HPCDのTN投与は、ウサギの鎮静不動化に加え、迅速な麻酔導入法の投与経路となると期待できることが明らかになった。

第三章では、健康なウサギ（日本白色種，雌，8羽）を最低1週間間隔で繰り返し使い、生理食塩液 0.4 mL/kg（対照群）、アルファキサロン-HPCD 1 mg/kg（TN1群）、2 mg/kg（TN2群）または4 mg/kg（TN4群）を鼻腔内にTN投与した。アルファキサロン-HPCDのTN投与後にTN1群では供試ウサギ3羽が横臥し、TN2群およびTN4群ではTN投与後30秒間ですべての供試ウサギが横臥した。横臥持続時間は、TN1群で6分間、TN2群で14.5分間、およびTN4群で26分間であり、アルファキサロン-HPCDの用量依存性に延長した。薬液投与後にはすべての群で自発呼吸が維持されたが、低酸素血症を対照群5羽、TN1群5羽、TN2群7羽およびTN4群8羽に認めた。健康なウサギでは、アルファキサロン-HPCD 2 mg/kgが適正なTN投与量であると結論された。

以上の結果から、ウサギの臨床例におけるアルファキサロン-HPCD の至適投与量は、IM投与で2.5 mg/kg および TN投与で2 mg/kg であることが明確になった。とくに、アルファキサロン-HPCD の TN投与は、ウサギの鎮静不動化に加え、迅速な麻酔導入法の投与経路となると期待できることが明らかになった。しか

しながら、ウサギへのアルファキサロン-HPCD を TN 投与する際には、低酸素血症を防止するために酸素供給が推奨される。

謝 辞

本研究の遂行および本論文の作成にあたり、終始ご指導およびご校閲を賜りました酪農学園大学 獣医学群 獣医学類 山下和人教授に深甚なる感謝の意を表します。また、本論文の作成において、終始適切なご指導ならびにご助言を賜りました、酪農学園大学 獣医保健看護学類 佐野忠士准教授、北澤多喜雄教授 ならびに 獣医学群 獣医学類 鈴木一由教授に深く感謝いたします。

またウサギの飼育に関して多大なるご協力をいただきました、酪農学園大学 獣医学群 獣医学類 桐澤力雄教授、酪農学園大学 獣医学群 獣医保健看護学類 宮庄拓講師に感謝いたします。また、実験動物の管理および実験の遂行にあたり快くご協力をいただきました獣医麻醉学ユニットの大学院生および学生をはじめとする伴侶動物医療学分野の学生各位に心より感謝いたします。

最後に、長きにわたる大学院生活を経済・精神面で支えていただきました家族に心から感謝の意を表すとともに、ともに獣医麻醉学を専攻し大学院生活を過ごした、オーバーン大学 レジデント課程 酒田尚志先生に多大なる感謝の意を表し、ここに御礼申し上げます。

参考文献

1. Adami, C., Imboden, T., Giovannini, A. E. and Spadavecchia, C. 2015. Combinations of dexmedetomidine and alfaxalone with butorphanol in cats: application of an innovative stepwise optimization method to identify optimal clinical doses for intramuscular anaesthesia. *J. Feline Med. Surg.* **18**: 846-853.
2. Arora, P., Sharma, S. and Garg, S. 2002. Permeability issues in nasal drug delivery. *Drug. Discov. Today.* **7**: 967-975.
3. Barter, L. S. and Epstein, S. E. 2014. Comparison of Doppler, oscillometric, auricular and carotid arterial blood pressure measurements in isoflurane anesthetized New Zealand white rabbits. *Vet. Anaesth. Analg.* **41**: 393-397.
4. Bauquier, S. H., Warne, L. N., Carter, J. E., Whittem, T. and Beths, T. 2017. Influence of two administration rates of alfaxalone at induction on its relative potency in cats: a pilot study. *J. Feline Med. Surg.* **19**: 231-234.
5. Bertelsen, M. F. and Sauer, C. D. 2011. Alfaxalone anaesthesia in the green iguana (*Iguana iguana*). *Vet. Anaesth. Analg.* **38**: 461-466.
6. Bertrand, H. G. M. J., Sandersen, C., Murray, J. 1. and Flecknell, P. A. 2017. A combination of alfaxalone, medetomidine and midazolam for the chemical immobilization of Rhesus macaque (*Macaca mulatta*): Preliminary results. *J. Med. Primatol.* **46**: 332-336.
7. Bradley, M. P., Doerning, C. M., Nowland, M. H., and Lester, P. A. 2019. Intramuscular administration of alfaxalone alone and in combination for sedation and anesthesia of rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* **58**: 216-222.
8. Brewster, M. E., Estse, K. S. and Bordor, N. 1989. Development of a non-surfactant formulation for alfaxalone through the use of chemically-modified cyclodeztrins. *J. Parenter Sci. Technol.* **43**: 262-265.
9. Clarke, R. S., Dundee, J. W., Garrett, F. T., McArdle, G. K. and Sutton, J. A. 1975. Adverse reactions to intravenous anaesthetics. *Br. J. Anaesth.* **47**: 575-585.
10. Dale, O. and Dale, T. 1991. Anesthetic gases, the ozone layer and the greenhouse effect. How harmful are the anesthetic emissions for the global environment?. *Tidsskr. Nor. Laegeforen.* **111**: 2115-2117.
11. Diehl, K., Hull, R., Morton, D., Pfister, R., Rabemampianina, Y., Smith, D., Vidal, J. and

- Vorstenbosch, C. 2001. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. *J. Appl. Toxicol.* **21**: 15-23.
12. Dodman, N. H. 1980. Complications of saffan anaesthesia in cats. *Vet. Rec.* **107**: 481-483.
 13. Doerning, C. M., Bradley, M. P., Lester, P.A., Nowland, M. H. 2018. Effects of subcutaneous alfaxalone alone and in combination with dexmedetomidine and buprenorphine in guinea pigs (*Cavia porcellus*). *Vet. Anaesth. Analg.* **45**: 658–666.
 14. d'Ovidio, D., Marino, F., Noviello, E., Lanaro, E., Monticelli, P. and Adami, C. 2018. Sedative effects of intramuscular alfaxalone in pet guinea pigs (*Cavia porcellus*). *Vet. Anaesth. Analg.* **45**: 183-189.
 15. Ellis, J. A., Gow, S. P., Lee, L. B., Lacoste, S., and Ball, E. C. 2017. Comparative efficacy of intranasal and injectable vaccines in stimulating Bordetella bronchiseptica-reactive anamnestic antibody responses in household dogs. *Can. Vet. J.* **58**: 809-815.
 16. Fenimore, A., Carter, K., Fankhauser, J., Hawley, J. R. and Lappin, M. R. 2016. Evaluation of intranasal vaccine administration and high-dose interferon- α 2b therapy for treatment of chronic upper respiratory tract infections in shelter cats. *J. Feline Med. Surg.* **18**: 603-611.
 17. Fisher, P. and Graham, J. 2018. Rabbits. pp.494-531. *In: Exotic Animal Formulary 5th ed.* (Carpenter, J. ed.), Elsevier-Saunders, St Louis.
 18. Flecknell, P., A. and Thomas, A. A . 2015 . Comparative Anesthesia and Analgesia of Laboratory Animals . pp. 754-763. *In: Lumb and Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia, 5th ed .* (Grimm, K. A., Lamont, L. A., Tranquilli, W. J., Greene, S. A. and Robertson, S. A. eds.), Blackwell Publishing, Iowa .
 19. Grassin-Delyle, S., Buenestado, A., Naline, E., Faisy, C., Blouquit-Laye, S., Couderc, L. J., Le Guen, M., Fischler, M. and Devillier, P. 2012. Intranasal drug delivery: an efficient and non-invasive route for systemic administration: focus on opioids. *Pharmacol. Ther.* **134**: 366-379.
 20. Grint, N. J., Smith, H. E., and Senior, J. M. 2008. Clinical evaluation of alfaxalone in cyclodextrin for the induction of anaesthesia in rabbits. *Vet. Rec.* **163**: 395-396.
 21. Grubb, T. L., Greene, S. A. and Perez, T. E. 2013. Cardiovascular and respiratory effects, and quality of anesthesia produced by alfaxalone administered intramuscularly to cats sedated with dexmedetomidine and hydromorphone. *J. Feline Med. Surg.* **15**: 858-865.
 22. Hansen, L. L. and Bertelsen, M. F. 2013. Assessment of the effects of intramuscular

- administration of alfaxalone with and without medetomidine in Horsfield's tortoises (*Agrionemys horsfieldii*). *Vet. Anaesth. Analg.* **40**: 68 -75.
23. Hedenqvist, P., Roughan, J., Orr, H. and Antunes, L. M. 2001. Assessment of ketamine/medetomidine anaesthesia in the New Zealand White rabbit. *Vet. Anaesth. Analg.* **28**: 18-25.
 24. Huynh, M., Poumeyrol, S., Pignon, C., Le Teuff, G. and Zilberstein, L. 2015. Intramuscular administration of alfaxalone for sedation in rabbits. *Vet. Rec.* **176**: 255.
 25. Ishikawa, Y., Sakata, H., Tachibana, Y., Itami, T., Oyama, N., Umar, M. A., Sano, T. and Yamashita, K. 2019. Sedative and physiological effects of low-dose intramuscular alfaxalone in rabbits. *J. Vet. Med. Sci.* **81**: 851-856.
 26. Kanda, Y. 2013. Investigation of the freely available easy-to-use software EZR for medical statistics. *Bone Marrow Transplant.* **48**: 452-458.
 27. Kischinovsky, M., Duse, A., Wang, T. and Bertelsen, M. F. 2013. Intramuscular administration of alfaxalone in red-eared sliders (*Trachemys scripta elegans*) -effects of dose and body temperature. *Vet. Anaesth. Analg.* **40**: 13-20.
 28. 小林剛 呼吸不全の病理生態 2011. がん患者の呼吸器症状の緩和に関するガイドライン pp. 18-21. 金原出版株式会社, 千葉.
 29. 國澤 純, 合田昌史, 清野 宏. 2007. 粘膜免疫のユニーク性の解明と粘膜ワクチンへの展開. *薬学雑誌.* **127**: 316-326.
 30. Lambert, J. J., Belevi, D., Peden, D. R., Vardy, A.W. and Peters, J. A 2003. Neurosteroid modulation of GABA_A receptors. *Prog. Neurobiol.* **71**: 67-80.
 31. Marjani, M., Akbarinejad, V., and Bagheri, M. 2015. Comparison of intranasal and intramuscular ketamine-midazolam combination in cats. *Vet. Anaesth. Analg.* **42**: 178-181.
 32. Michou, J. N., Leece, E. A. and Brearley, J. C. 2012. Comparison of pain on injection during induction of anaesthesia with alfaxalone and two formulations of propofol in dogs. *Vet. Anaesth. Analg.* **39**: 275-281.
 33. Muhammad, Q., Hossein, Z. and Thomas, E. N. 2000. Development and evaluation of nasal formulations of ketorolac. *Drug. Deliv.* **7**: 223-229.
 34. Perrin, K. L., Nielsen, J. B., Thomsen, A. F., Bertelsen, M. F. 2017. Alfaxalone anesthesia in the Bengalese finch (*Lonchura domestica*). *J. Zoo Wildl. Med.* **48**: 1146-1153.
 35. Pires, A., Fortuna, A., Alves, G. and Falcão A. 2009. Intranasal drug delivery: how, why

- and what for? *J. Pharm. Pharm. Sci.* **12**: 288-311.
36. Ramoo, S., Bradbury, L. A., Anderson, G. A. and Abraham, L. A. 2013. Sedation of hyperthyroid cats with subcutaneous administration of a combination of alfaxalone and butorphanol. *Aust. Vet. J.* **91**: 131–136.
 37. Ratliff, C., Parkinson, L. A. B., and Mans, C. 2019. Effects of the fraction of inspired oxygen on alfaxalone-sedated inland bearded dragons (*Pogona vitticeps*). *Am. J. Vet. Res.* **80**: 129-134.
 38. Santangelo, B., Micieli, F., Marino, F. Reynaud, F., Cassandro, P., Carfora, A., Petrella, R., Borriello, R., Cataldi, M. and Vesce, G. 2015. Plasma concentrations and sedative effects of a dexmedetomidine, midazolam, and butorphanol combination after transnasal administration in healthy rabbits. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* **39**: 408–411.
 39. Santangelo, B., Micieli, F., Mozzillo, T., Reynaud, F., Marino, F., Auletta, L. and Vesce, G. 2016. Transnasal administration of a combination of dexmedetomidine, midazolam and butorphanol produces deep sedation in New Zealand White rabbits. *Vet. Anaesth. Analg.* **43**: 209-214.
 40. Santos, M., Bertran de Lis, B. T. and Tendillo, F. J. 2013. Effects of intramuscular alfaxalone alone or in combination with diazepam in swine. *Vet. Anaesth. Analg.* **40**: 399-402.
 41. Sato, H., Sehata, G., Okada, N., Iwamoto, K., Masubuchi, K., Kainuma, R., Noda, T., Igarashi, T., Sawada, T., Noro, T., and Oishi, E. 2017. Intranasal immunization with inactivated feline calicivirus particles confers robust protection against homologous virus and suppression against heterologous virus in cats. *J. Gen. Virol.* **98**: 1730-1738.
 42. 武田真莉子. 2017. 経鼻薬物送達の現状と将来. *日薬理誌*. **150**: 148-152.
 43. Tamura, J., Ishizuka, T., Fukui, S., Oyama, N., Kawase, K., Itami, T., Miyoshi, K., Sano, T., Pasloske, K. and Yamashita, K. 2015. Sedative effects of intramuscular alfaxalone administered to cats. *J. Vet. Med. Sci.* **77**: 897-904.
 44. Tamura, J., Ishizuka, T., Fukui, S., Oyama, N., Kawase, K., Miyoshi, K., Sano, T., Pasloske, K. and Yamashita, K. 2015. The pharmacological effects of the anesthetic alfaxalone after intramuscular administration to dogs. *J. Vet. Med. Sci.* **77**: 289-296.
 45. 田村 純 . 2015. 犬における筋肉内投与による新たな注射麻酔法の開発. 2014 年度酪農学園大院獣医研究科博士論文.
 46. Thomas, A. A., Leach, M. C. and Flecknell, P. A. 2012. An alternative method of endotracheal intubation of common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Lab. Anim.* **46**:

71-76.

47. Varga, M. 2014. The rabbit-friendly practice. pp.59-79. *In: Manual of Rabbit Medicine*, 1st ed. (Meredith, A. and Lord, B. ed.), British Small Animal Veterinary Association, Gloucester.
48. Wahler, B. M., Lerche, P., Ricco Pereira, C. H., Bednarski, R. M., KuKanich, B., Lakritz, J., and Aarnes, T. K. 2019. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of intranasal and intravenous naloxone hydrochloride administration in healthy dogs. *Am. J. Vet. Res.* **80**: 696-701.
49. Warne, L. N., Beths, T., Whittam, T., Carter, J. E., and Bauquier, S. H. 2015. A review of the pharmacology and clinical application of alfaxalone in cats. *Vet. J.* **203**: 141–148.
50. Weiland, L. C., Kluge, K., Kutter, A. P. N. and Kronen, P. W. 2017. Clinical evaluation of intranasal medetomidine-ketamine and medetomidine-S(+)-ketamine for induction of anaesthesia in rabbits in two centres with two different administration techniques. *Vet. Anaesth. Analg.* **44**: 98–105.
51. Yanmaz, L. E., Dogan, E., Okur, S., Okumus, Z., and Ersoz, U. 2016. Comparison of the effects of intranasal and intramuscular administrations of zolazepam-tiletamine combination on intraocular pressure in cats. *Vet. Ophthalmol.* **19** Suppl 1: 115-118.
52. Yaw, T. J., Mans, C., Johnson, S. M., Doss, G. A., Sladky, K. K. 2018. Effect of injection site on alfaxalone-induced sedation in ball pythons (*Python regius*). *J. Small Anim. Pract.* **59**: 747-751.

Development of new sedation-anesthesia methods using alfaxalone in rabbits

Yushun Ishikawa

Veterinary Anesthesiology, Doctoral course of Veterinary Medicine,
Graduate School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University

While rabbits are widely used as experimental animals in research field, they are also bred as food animals and companion animals. In spite of this, rabbit medicine is still a developing field and there are many problems left to resolve. For example, many of the doses of sedatives and anesthetics for rabbits shown in the veterinary textbooks can produce a strong effect on laboratory animals, and might be inappropriate or lead to overdose in clinical cases. Furthermore, the development of sedative-anesthetic protocol without ketamine is an urgent issue since ketamine has been designated legally as a controlled narcotic in Japan in 2007.

Alfaxalone (3- α -hydroxy-5- α -pregnane-11,20-dione) is a synthetic neuroactive steroid molecule which modulates the gamma-aminobutyric acid A receptor causing neuro-depression and muscular relaxation. Over the last decade, alfaxalone formulated with 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin (alfaxalone-HPCD) has been approved as an intravenous anesthetic induction agent for dogs and cats. Alfaxalone-HPCD also causes very little tissue irritation and its sedation-immobilization effect by intramuscular (IM) and subcutaneous (SC) administration has been investigated in many species. In addition, alfaxalone-HPCD is considered suitable for transnasal (TN) administration which is attracting attention as a new drug administration route for systemic drugs. However, at the present time, the sedation-immobilization effect of alfaxalone-HPCD administered at a low dose of less than 4 mg / kg IM has not yet been examined, and there is no study on the TN administration of alfaxalone-HPCD. Therefore, the aim of this study is threefold. In the first chapter, the sedation-immobilization effects of IM administration of low-dose alfaxalone-HPCD on rabbits were examined. The second chapter compares the sedation-immobilization effects of alfaxalone-HPCD on rabbits between IM, SC, and TN administration. Furthermore, the optimal dose of TN alfaxalone-HPCD for rabbits were determined in Chapter 3.

In the Chapter 1, six healthy female Japanese white rabbits were treated with a single IM alfaxalone-HPCD at doses of 1 mg/kg (IM1), 2.5 mg/kg (IM2.5), and 5 mg/kg (IM5) with a washout period of 7-day between the treatments. A deep level of sedation with lying down was achieved in 3 rabbits after IM1 treatment and all 6 rabbits after IM2.5 and IM5 treatments.

No rabbit showed apnea after all treatments. A single IM alfaxalone-HPCD alone at a low-dose range of 1 to 5 mg/kg provided a dose-dependent sedation-immobilization in rabbits with mild adverse effects. In particular, a single IM alfaxalone-HPCD at 2.5 mg/kg produced an appropriate sedation-immobilization effect.

In the Chapter 2, six healthy female Japanese white rabbits were treated with 5 mg/kg alfaxalone-HPCD administrated by IM, SC, and TN with a washout period of 7-day. All the treatments produced sedation enough to lose the righting reflex in rabbits. The TN alfaxalone-HPCD produced a considerably faster onset and recovery times, with 30 sec and 35 min respectively. Respiratory rate decreased dramatically in all treatments. Especially, the partial pressure of arterial oxygen and percutaneous oxygen saturation of hemoglobin plunged to under acceptable range after the TN alfaxalone-HPCD. This study showed that the TN alfaxalone-HPCD has potential to produce sedation-immobilization and rapid anesthetic induction in rabbits.

In the Chapter 3, eight healthy female Japanese white rabbits were treated with a single TN administration of saline (0.4 mL/kg) as control and alfaxalone-HPCD at lower doses of 1 mg/kg (TN1), 2 mg/kg (TN2), and 4 mg/kg (TN4) with a washout period of 7-day between the treatments. A deep level of sedation with laingy down was achieved in 3 rabbits after TN1 and all rabbits after TN2 and TN4 treatments. Median durations of loss of the righting reflex were 6, 14.5, and 26 min after TN1, TN2, and TN4 treatments, respectively. A single TN alfaxalone-HPCD alone at a dose range of 1 to 4 mg/kg provided a dose-dependent sedation in rabbits. Spontaneous breathing was maintained after all treatments; however, the TN route elicited hypoxemia with 5, 5, 7, and 8 rabbits, respectively after control, TN1, TN2, and TN4. This study suggested that 2mg/kg of alfaxalone-HPCD is appropriate dosage for a short time sedation.

In conclusion, this study revealed that the optimal doses of alfaxalone-HPCD in clinical trial in rabbits was 2.5 mg/kg for IM and 2 mg/kg for TN routes. In particular, the TN alfaxalone-HPCD has potential to produce effective sedation-immobilization and rapid anesthetic induction in rabbits. Oxygen supplementation is however recommended to prevent hypoxemia when alfaxalone-HPCD is administrated through TN route to rabbits.