

実験動物の苦痛軽減

(麻酔法と安楽死法)

マウスとラット



兵庫医科大学

不明な点は各キャンパス病態モデル研究センターの実験動物管理者にお尋ね下さい

マウスの推奨麻酔薬（外科麻酔適用）

吸入麻酔薬：イソフルラン（劇）、セボフルラン（劇）

イソフルランのMAC₅₀ 1.41%¹⁾

セボフルランのMAC₅₀ 2.5%¹⁾

セボフルランのMAC₅₀ 2.29%（ddNマウス）³⁾

イソフルラン：導入4-5%、維持2-3% *²⁾

セボフルラン：導入5%、維持2.5-4% *²⁾

* 麻酔気化器を使用した際のガス濃度

引用文献等

- 1) Laboratory Animal Anaesthesia(4th Ed.) Paul A. Flecknell 2015.
- 2) 大阪大学医学部 実験動物医学教室HP <http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/iexas/mice03.htm>
- 3) 丸石製薬HP <http://www.maruishi-pharm.co.jp/med2/files/item/222/other/detail.pdf?1322457498>

ラットの推奨麻酔薬（外科麻酔適用）

苦軽3

吸入麻酔薬：イソフルラン（劇）、セボフルラン（劇）

イソフルランのMAC₅₀ 1.38%¹⁾

セボフルランのMAC₅₀ 2.7%¹⁾

セボフルランのMAC₅₀ 2.8%(SDラット)⁴⁾

イソフルラン：導入4-5%、維持2-3% *³⁾

イソフルラン：導入5%、維持1.5-3% *²⁾

セボフルラン：導入5%、維持2.5-4% *³⁾

セボフルラン：導入8%、維持3.5-4.0% *¹⁾

* 麻酔気化器を使用した際のガス濃度

引用文献等

1) Laboratory Animal Anaesthesia(3rd Ed.) Paul A. Flecknell 2009.

2) Laboratory Animal Anaesthesia(4th Ed.) Paul A. Flecknell 2015.

3) 大阪大学医学部 実験動物医学教室HP <http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/iexas/rat03.htm>

4) 丸石製薬HP <http://www.maruishipharm.co.jp/med2/files/item/222/other/detail.pdf?1322457498>

麻酔薬使用上の注意

👉 エーテル（ジエチルエーテル）の麻酔薬としての使用について

本剤は吸入麻酔法が発見された時に用いられた歴史的に麻酔学上極めて重要な薬剤である。多くの吸入麻酔薬の作用機序等は本剤を中心に研究されてきた。

しかし、本剤は引火性があること気道刺激、それにともなう気道分泌物過剰および喉頭痙攣などの副作用があることが報告された。欧米の最近の専門教科書では本剤による吸入麻酔は不適切であるとしている。これらの短所を克服すべく、ハロセン、セボフルレン、イソフルレンなどが新たに開発され、臨床的には十分普及している。またその薬理作用なども十分研究がすすんでいる。

臨床的に使用されなくなったためもあり、本剤は麻酔薬としては既に市販されていない。試薬、工業用薬品として販売されているが、それらについては労働安全衛生法、消防法などにより規制されている。

麻酔に医薬品以外を用いることは倫理的に許されない。また麻酔が苦痛の軽減のためであれば、健康被害が知られている化学物質を麻酔の目的に使用することは適切ではない。

実験動物へのエーテルの使用は禁止

エーテルの使用だけで論文のreject例あり！

苦軽4

マウスの推奨麻酔薬（外科麻酔適用）

注射用麻酔薬

☞塩酸メデトミジン（劇）（動）0.3mg/kg+ミダゾラム（向）4mg/kg+酒石酸ブトルファンール（劇）5mg/kgになるように生理食塩水で希釈し、i.p.²⁾

☞塩酸ケタミン（麻）（劇）75mg/kg+塩酸メデトミジン（劇）（動）1.0mg/kgになるように生理食塩水で希釈し、i.p.^{1) ,2)}

☞塩酸ケタミン（麻）（劇）80-100mg/kg+塩酸キシラジン（劇）（動）10mg/kgになるように生理食塩水で希釈し、i.p.^{1) ,2)}

☞チオペンタール（劇）30-40mg/kg, i.v.^{1) ,2)}

☞塩酸メデトミジン、キシラジンには拮抗薬が使用可能（アチパメゾール0.1-1mg/kg, i.p.）¹⁾

引用文献等

1) Laboratory Animal Anaesthesia(4th Ed.) Paul A. Flecknell 2015.

2) 大阪大学医学部 実験動物医学教室HP <http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/iexas/mice03.htm>

ラットの推奨麻酔薬（外科麻酔適用）

注射用麻酔薬

- ☞ 塩酸メデトミジン（劇）（動）0.15mg/kg + ミダゾラム（向）2mg/kg + 酒石酸ブトルファノール（劇）2.5mg/kg になるように生理食塩水で希釈し、i.p.²⁾
- ☞ 塩酸ケタミン（麻）（劇）75mg/kg + 塩酸メデトミジン（劇）（動）0.5mg/kg になるように生理食塩水で希釈し、i.p.^{1), 2)}
- ☞ 塩酸ケタミン（麻）（劇）75-100mg/kg + 塩酸キシラジン（劇）（動）10mg/kg になるように生理食塩水で希釈し、i.p.^{1), 2)}
- ☞ チオペンタール（劇）30-40mg/kg, i.v.^{1), 2)}
- ☞ 塩酸メデトミジン、キシラジンには拮抗薬が使用可能（アチパメゾール0.1-1mg/kg, i.p.）¹⁾

引用文献等

- 1) Laboratory Animal Anaesthesia(4th Ed.) Paul A. Flecknell 2015.
- 2) 大阪大学医学部 実験動物医学教室HP <http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/iexas/rat03.htm>

3種混合麻酔の調整法¹⁾

- ☞ ドミトール®（塩酸メデトミジン1.0mg/ml）日本全薬工業（動物用医薬品）
- ☞ ドルミカム®（ミダゾラム5.0mg/ml）アステラス製薬
- ☞ ベトルファール®（酒石酸ブトルファノール5.0mg/ml）Meiji Seikaファルマ（動物用医薬品）を使用する場合、
ドミトール®を0.75ml + ドルミカム®2ml + ベトルファール®2.5ml に注射用蒸留水19.75ml を加えて、全量を25ml とする。

マウスは体重10gあたり0.1ml を腹腔内投与する。

ラットはこの調製液をさらに注射用蒸留水で2倍に希釈して、ラットの体重10gあたり0.1ml を腹腔内投与する。

混合後の麻酔薬は4℃で保存すれば、8週間は外科麻酔に変化がない²⁾。

引用文献等

- 1) 九州大学附属動物実験施設HP <http://www.qda.med.kyushu-u.ac.jp:8080/koukai/sannsyu.pdf>
- 2) 実験動物医学 No.43, 2013.

☞ ペントバルビタールNa（ソムノペンチル®）の外科麻酔での単独使用について

本剤はこれまで広く麻酔薬、催眠薬として使用されてきた。とくに実験動物では注射麻酔薬として多くの教科書に記載されたことから、外科麻酔時にも単独で広く使用されてきた。

しかし、本剤には鎮痛作用はほとんどなく、その強力な催眠作用により、意識喪失の状態にすることによる外科麻酔が得られるとされてきた。しかし、意識喪失の状態が得られる用量は致死量に極めて近く、さらに本剤の呼吸抑制作用のため、外科麻酔が得られる程の投与量では死亡事故が多発することが知られてきた。

近年出版された実験動物麻酔学の教科書（Fish, et al 2008, Flecknell, 2009）では本剤の単独投与による全身麻酔は不適切であると明言されている。

Pentobarbital should be diluted to provide a 30 mg/ml solution and up to 40-50 mg/kg administered intraperitoneally.

Severe respiratory depression invariably accompanies the onset of surgical anaesthesia and this agent has a narrow safety margin.

Until an appropriate dose rate is established, both inadequate and excessively deep anaesthesia may result, so this drug is best avoided in rats.

Intraperitoneal administration of pentobarbital may also cause pain, as a result of the low pH of the solution (Svendsen et al., 2007).

本剤の単独投与による外科麻酔は推奨しない。

なお、動物用医薬品としてのソムノペンチルの販売が中止されたため、今後の入手は困難である

試薬をそのまま溶解して投与することは不適切である。

麻酔の使用上の注意

- ☞ 系統差、雌雄差がある薬剤もあるので注意しながら使用のこと
- ☞ マウスはラットより低体温になる傾向がある（保温を十分に）
- ☞ 体温（保温の有無、室温等に影響を受ける）、年齢、併用薬物、体の状態、操作された遺伝子等により、同じ投与量でも麻酔深度が変わることがある

（麻）：麻薬、**麻薬研究者免許が必要**

（向）：向精神薬、麻薬及び向精神薬取締法の適応を受け、学内での適正な保管・管理が求められる

（劇）：劇薬

（動）：動物用医薬品、購入には獣医師の処方箋が必要になる場合がある

1.安楽死の一般原則

動物の愛護及び管理に関する法律

第四十条 動物を殺さなければならない場合には、できる限りその動物に**苦痛を与えない**方法によつて**しなければならない**。

2 環境大臣は、関係行政機関の長と協議して、**前項の方法**に関し必要な事項を定めることができる。

動物の殺処分方法に関する指針

3 前項の必要な事項を定めるに当たつては、第一項の方法についての国際的動向に十分配慮するよう努めなければならない。

動物の殺処分方法に関する指針（総理府告示第40号）

☞管理者及び処分実施者は、処分動物の生理、生態、習性等を理解し、生命の尊厳性を尊重することを理念として、その動物にできる限り苦痛を与えないように努める。又、処分方法については、化学的又は物理的方法を用いて当該動物を意識の喪失状態にし、心機能又は肺機能を非可逆的に停止させる方法によるほか、社会的に容認されている通常の方法による。

2. 国際的な安楽死法のガイドライン

AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition



容認:確実に安楽死させることのできる方法

条件付容認:薬効的・技術的に不安定な方法、科学的証明が十分でない方法

不適切:従来安楽死に用いられた方法の中で、**安楽死をもたらすことのできない方法、確実性が低い方法、苦痛を伴う方法**

苦痛11

国際的動向に十分配慮する

動物種	容認	条件付容認	不適切
マウス、ラット	バルビツレートの注入（麻酔量の3倍）とバルビツレートの組合せ（局所麻酔、鎮痙薬の併用） 解離性薬剤の組合せ（ケタミンとキシラジン、ケタミンとジアゼパムなど）	吸入麻酔薬（単独使用では時間を要す、麻酔薬に直接触れさせない）CO₂（1分間にケージ容積の30～70%を置き換える）70-100%エタノール（マウスのみ、他の方法が使用できない場合のみ）Focused beam microwave irradiation、頸椎脱臼（ラットは200g未満）（熟練のために麻酔下や死体での訓練が必要）断頭（熟練のために麻酔下や死体での訓練が必要）	N₂、アルゴン、塩化カリウム（単独投与）、神経遮断、オピオイド、ウレタン、α-クロラロース、エーテル、ストリキニーネ、ニコチン、インスリン、カフェイン、洗浄剤、溶剤、殺虫剤、消毒剤、および治療または安楽死用に特別に設計されていない他の毒物
ウサギ	バルビツレート（静注）	吸入麻酔薬（要前投薬） CO₂（鎮痛剤の前投与が必要） 頸椎脱臼（デバイスのサポートが必要、死体での訓練が必要） PCB,NPCB（物理的安楽死用の中枢破壊装置、死体での訓練が必要）	

空気栓塞、頭蓋打撲（多くの場合）、無麻酔の放血、シアン化合物、クロロフォルムの使用、減圧、溺殺、焼殺等は問題外で禁止！

頸椎脱臼に関して

本学では、安楽死として、無麻酔、非鎮静化での頸椎脱臼を行えるのは、「熟練者」としてしています

頸椎脱臼に慣れていない方が無麻酔、非鎮静化での頸椎脱臼による安楽死措置を行うことはできません

熟練者以外は麻酔下、鎮静下で頸椎脱臼を行って下さい

事前に熟練者の指導下に死体等で訓練を行って下さい

頸椎脱臼後には、必ず死亡を確認してください

不完全な頸椎脱臼処置は動物に多大な苦痛を与えます

完全な死の確認、新生児の確認、エンドポイント実行のお願い

安楽死を行った場合、その動物が完全に死亡したことを必ず確認下さい

完全な死の確認後に冷凍庫等、死体の保管場所に移動させて下さい

特に頸椎脱臼、吸入麻酔薬を用いた安楽死処置で完全に死亡していない事例が知られています

新生仔がいるケージを交換した際には、生きた新生仔が床敷内に残っていないか必ず確認して下さい

上記は最悪の場合、「動物の愛護及び管理に関する法律」「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」等に抵触する可能性があります

苦痛頻度の高い実験を行う場合は、動物の観察を十分をお願いします

実験動物の異常や瀕死の連絡があった場合は、必ず動物の状態の確認をお願いします
必要に応じ、人道的エンドポイントの実行をお願いします