HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	犬におけるイソフルラン麻酔下でのノルアドレナリンを用いた循環管理に関する実験的研究
Author(s)	小島, 一輝
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第15029号
Issue Date	2022-03-24
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k15029
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/86077
Type	doctoral thesis
File Information	KOJIMA_Kazuki.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

犬におけるイソフルラン麻酔下での
ノルアドレナリンを用いた
循環管理に関する実験的研究

(An Experimental Study on Cardiovascular Management

with Noradrenaline under Isoflurane Anesthesia in Dogs)

小島　一輝

目次

諸言・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・7

第 1 章

イソフルラン麻酔下の健常犬においてノルアドレナリンの漸増投与が全身循環に及ぼす影響の検討・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・10

1. 諸言・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・11
2. 材料及び方法・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・12
   2.1 使用動物・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・12
   2.2 実験準備及び各種測定項目・・・・・・・・・・・・・・・・・・12
   2.3 実験手順・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・14
   2.4 統計解析・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・14
3. 結果・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・15
   3.1 心血管系機能指標・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・15
   3.2 血液ガス検査関連指標及び乳酸値・・・・・・・・・・・・・・・15
4. 考察・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・21

第 2 章

イソフルラン麻酔下の健常犬においてノルアドレナリン投与が局所循環に及ぼす影響の検討-造影超音波検査による局所血流解析-・・・・・・・・・25

1. 諸言・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・26
2. 材料及び方法・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・28
   2.1 使用動物・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・28
   2.2 実験準備及び各種測定項目・・・・・・・・・・・・・・・・・・28
   2.3 造影超音波検査・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・29
   2.4 実験手順・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・30

2.5 統計解析・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・30
3. 結果・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・33
3.1 心血管系機能指標・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・33
3.2 造影超音波検査関連指標・・・・・・・・・・・・・・・・・・・33
4. 考察・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・38

結論・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・**41**

謝辞・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・**43**

参考文献・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・**44**

略語表

AU：arb. unit　任意単位
AUC：area under the curve 総曲線下面積
CEUS：contrast-enhanced ultrasonography 造影超音波検査
CFI：cardiac function index 心機能指数
CI：cardiac index 心係数
CO：cardiac output 心拍出量
CVP：central venus pressure 中心静脈圧
DAP：diastolic arterial pressure 拡張期血圧
DO_2：oxygen delivery 酸素運搬量
DO_2I：oxygen delivery index 酸素運搬量指数
Ea：effective arterial elastance 有効動脈エラスタンス
ETISO：end-tidal isoflurane concentration 終末呼気イソフルラン濃度
GEF：global ejection fraction 全駆出率
GEDV：global end-diastolic volume 心臓拡張末期容量
GEDVI：global end-diastolic volume index 心臓拡張末期容量係数
Hb：血中ヘモグロビン濃度
HCO^{3-}：重炭酸イオン濃度
HR：heart rate 心拍数
MAP：mean artery pressure 平均動脈圧
mTT：mean transit time 平均到達時間
$PaCO_2$：arterial partial pressures of carbon dioxid 動脈血二酸化炭素分圧
$P_E'CO_2$：end-tidal partial pressure of carbon dioxide 終末呼気二酸化炭素分圧
$PvCO_2$：central venous partial pressures of carbon dioxide 混合静脈血二酸化炭素分圧
PCO_2gap：Central venous-to-arterial carbon dioxide difference 混合静脈血-動脈血二酸化炭素分圧較差
PAOP：pulmonary occlusion pressure 肺動脈楔入圧
PI：peak intensity 最大造影強度

Qs/Qt：venous admixture シャント率
ROI：regions of interest 関心領域
SAP：systolic blood pressure 収縮期血圧
$ScvO_2$：Central venous oxygen saturation 混合静脈血酸素飽和度
SV：stroke volume 1 回拍出量
SVI：stroke volume indexed 1 回拍出量係数
SVR：systemic vascular resistance 体血管抵抗
SVRI：systemic vascular resistance index 体血管抵抗係数
TIC：time-intensity curve 時間造影輝度曲線
TTP：time to peak 最大到達時間
WiAUC：wash-in area under the curve 流入曲線下面積
WoAUC：wash-out area under the curve 流出曲線下面積
VO_2：oxygen consumption 酸素消費量
VO_2I：oxygen consumption index 酸素消費量指数

学位関連論文リスト

1. Kojima, K., Ishizuka, T., Sasaki, N., Nakamura, K. and Takiguchi, M. 2021. Cardiovascular effects of dose escalating of norepinephrine in healthy dogs anesthetized with isoflurane. *Vet. Anaesth. Analg.* 48: 654–662.

各章との関連：第 1 章に相当

諸言

小動物医療において全身麻酔は外科手術だけではなく各種検査においても広く利用される。一方で、全身麻酔は正常な生体活動を抑制するため、さまざまな合併症を引き起こす。その中でも低血圧［平均血圧（MAP）< 60 mmHg］は最も一般的な全身麻酔による合併症であり、過去の報告では犬において最大 60%の症例で麻酔中に低血圧が発生するとされている [17]。

MAP は臓器の血管抵抗とともに臓器血流（臓器血流=MAP/血管抵抗）を規定する重要な因子である。一方で、血圧が低下すると生体は血管抵抗を低下させ、臓器血流を一定に保とうとする（臓器血流の自動調節能）。しかし、血管抵抗は血管径に大きく依存するため、血管が完全に拡張すると血管抵抗をそれ以上低下させることができない。その結果、血圧が重度に低下した状態では臓器血流は血圧依存性に低下する。この自動調節能が働く MAP の下限値が一般的に 60 mmHg 前後と考えられており [19]、麻酔中に発生する低血圧は臓器血流の低下につながる危険性がある。

臓器血流の低下は酸素をはじめ細胞活動に必要な物質の供給を減らすため、最終的には低血圧は臓器障害を引き起こす。また、医学領域では手術中の低血圧が術後の臓器障害を増加させるだけでなく、周術期死亡とも独立して関連することが明らかとなっている [48]。近年、小動物医療でも術中の低血圧と周術期予後との関連について報告した研究が散見されるが [10, 21]、残念なことに血圧と周術期予後との明確な関連性は明らかになっていない。しかし、生理学的な背景や医学領域の研究結果から、麻酔中の低血圧を回避する必要があるのは明確であり、臓器血流指標として血圧をモニタリングし管理することが小動物医療でも推奨されている [17]。

イソフルランは小動物医療において利用されている吸入麻酔薬だが、血管拡張作用と心筋抑制作用を有しているため、用量依存性に MAP を低下させる [32, 35]。臨床例においてもイソフルラン麻酔下での低血圧は非常に一般的である [22]。イソフルランの循環抑制作用が用量依存性であることから、イソフルランが過剰である場合、用量の低減が低血圧への初期対応となる [17]。しかし、全身麻酔維持に適正な用量であった場合、イソフルランの低減は術中覚醒につながる危険性があるため推奨されない。よって、輸液療法や循環作動薬による低血圧治療が必要になる。

これまでイソフルラン麻酔下の犬において、様々な低血圧治療が検討されてきた。イソフルラン低血圧モデル犬に対する輸液療法の効果を検討した研究 [1] では、輸液療法は

心拍出量（CO）を有意に増加させたが、低血圧を改善しなかった。この原因として健常犬では循環血液量が正常であるため、循環血液量の低下とそれに伴う CO の低下が低血圧の主原因ではなかったことが考えられる。臨床現場でもイソフルランによる低血圧治療として、輸液投与が最初に選択されることは多いが[17]、すべての動物で血圧の改善は認められない。逆に、不必要な輸液療法は体液過剰を招き、間質性浮腫、血液希釈、血管内皮障害などの様々な合併症につながる。過剰輸液に伴う合併症は周術期予後を悪化させるため[6]、術中の不必要な輸液投与は避けるべきである。よって、循環血液量が正常と予想される犬では、イソフルラン麻酔下の低血圧治療として輸液療法以外の対応を検討する必要がある。

イソフルラン低血圧モデル犬を用いて循環作動薬であるドパミンとドブタミンの有効性を検討した研究では[46]、ドブタミンがイソフルラン麻酔下における低血圧を改善しなかったのに対し、ドパミンは用量依存性に血圧を上昇させた。両者で異なる結果となった理由としては、作用するアドレナリン受容体が異なることが挙げられる。どちらもアドレナリンβ1 受容体を介した陽性変力・変時作用を有するが、ドブタミンはβ2 受容体を介した血管拡張作用を有し、ドパミンはα1 受容体を介した血管収縮作用を有する。ドパミンだけが血圧を上昇させたことや先述した輸液療法の研究結果から、イソフルラン麻酔下の低血圧治療として、CO 増加が主体の治療よりも血管収縮による治療が有用である可能性が示唆される。

ノルアドレナリンは、強力なアドレナリンα1 受容体作動性と弱いβ1 受容体作動性をもつカテコラミンであり、強力な血管収縮作用と弱い陽性変力・変時作用を有する。医学領域では血管拡張性の低血圧に対して利用され、敗血症患者における循環作動薬の第一選択薬である[13]。これまで、ノルアドレナリンが循環に及ぼす影響は敗血症モデル動物を用いて広く検討されてきた[3, 26, 41]。過去の敗血症モデル犬を用いた報告では、ノルアドレナリンは用量依存性に血圧と臓器血流の両者を増加させた。このような背景から、小動物医療でも敗血症のような血管拡張性低血圧の治療にノルアドレナリンは有用と考えられ、臨床現場で利用されている。

全身麻酔下でも血管拡張性の低血圧が疑われる場合、低血圧治療にノルアドレナリンは使用されている。しかし、臨床的な全身麻酔を想定した条件でノルアドレナリンが循環に及ぼす影響を検討した研究はほとんどない。そのため、敗血症モデルでの研究結果を全身麻酔下に外挿して使用されている。先述した通り、イソフルランによる低血圧に対してはノルアドレナリンの血管収縮作用は有用と考えられる。しかし、敗血症と吸入麻酔で

は血管抵抗や心機能をはじめとするベースの心血管系機能が大きく異なる。よって、ノルアドレナリンの心血管系機能に及ぼす影響は敗血症モデルと異なる可能性がある。

以上の背景から、イソフルラン麻酔下でもノルアドレナリンの投与は全身及び局所循環の維持に有用という仮説を立てた。そこで、イソフルラン麻酔下の健常犬において、ノルアドレナリンが全身及び局所循環に及ぼす影響を明らかにすることを本研究の目的とした。

第 1 章

イソフルラン麻酔下の健常犬において

ノルアドレナリンの漸増投与が全身循環に及ぼす影響の検討

1.諸言

イソフルランは小動物で利用される吸入麻酔薬であり、用量依存性に循環抑制作用を呈する[33]。臓器血流維持の観点から、低血圧に対しては治療介入が必要となり、低血圧の原因によって治療方法も異なる。イソフルランの低血圧は血管拡張が主病態の一つであるため、血管収縮薬による血圧対応が有効と考えられている。

小動物医療においてノルアドレナリンは、主に敗血症の様な重度の血管拡張病態に利用されることが多いが、全身麻酔下の低血圧治療にも利用されている。ノルアドレナリン投与が心血管系機能に及ぼす影響は主に敗血症モデル犬を用いて検討されており[3, 26, 41]、用量依存性に血圧を増加し、臓器血流も改善することが報告されている。しかし、ハロタン麻酔下でノルアドレナリンが循環に及ぼす影響を検討した研究[41]はあるものの、イソフルランをはじめとする現在臨床現場で使用されている吸入麻酔下での検討は存在しない。ハロタンは臨床現場ではほぼ使用されておらず、イソフルランを始めとする新しい吸入麻酔薬と比較して循環抑制作用が強い[35]。臨床麻酔下では敗血症モデルの研究結果を外挿する形でノルアドレナリンを使用しているが、ベースの心血管系機能が大きく異なるため、心血管系機能に及ぼす影響も異なる可能性がある。特に、全身麻酔下の低血圧治療において、ノルアドレナリン投与が過剰な血管収縮により血管抵抗を増大させることで CO や臓器血流を低下させる可能性が危惧されている[34, 52]。よって、イソフルラン麻酔下においてノルアドレナリンが心血管系に及ぼす影響を明らかにすることは、安全な臨床使用を裏付けるためにも必須である。

そこで、第 1 章の目的は、イソフルラン麻酔下の健常犬におけるノルアドレナリンの全身循環への影響を評価することである。本実験における仮説は、ノルアドレナリンが、過度の血管収縮を伴わずに、用量依存性に MAP を上昇させるというものである。

2.方法

2.1 使用動物

未避妊雌の健常ビーグル犬 6 頭（年齢 1-4 歳、体重 8.8-12 kg）を実験に供した。実験犬は国際実験動物管理公認協会の規定に沿って、北海道大学大学院獣医学研究院の動物施設にて飼育された。全ての実験犬はあらかじめ身体検査、全血球計算、血液化学検査にて健常であることを確認した。本実験は「北海道大学動物実験委員会」による倫理審査を受けており（承認番号 18-173）、「国立大学法人北海道大学動物実験に関する規定」及び「北海道大学動物 実験実施マニュアル」の規定を遵守して実施された。

2.2 実験準備及び各種測定項目

実験当日は麻酔導入 12 時間前から絶食としたが、飲水は制限しなかった。22G 長さ 2.5 cm の留置針（Supercath 5，メディキット，東京）を両側の橈側皮静脈に挿入した。一方の静脈カテーテルはノルアドレナリンの投与に使用し、残りの静脈カテーテルは薬剤投与及び乳酸リンゲル液（3 mL kg^{-1} $hour^{-1}$；ソルラクト，テルモ，東京）の投与に使用した。プロポフォール（4–6 mg kg^{-1}；プロポフォール注 1%「マイラン」，マイラン製薬，大阪)の緩徐投与により全身麻酔を導入し、気管挿管した。人工呼吸回路へと接続後、100%酸素（流量 2 L $minute^{-1}$）とイソフルラン（イソフル®, DS ファーマアニマルヘルス，大阪）にて全身麻酔を維持した。イソフルランは過去の報告[53]を参考に、終末呼気イソフルラン濃度（ETISO）が最小肺胞内濃度の 1.3 倍である 1.6-1.7%となるように調整した。呼吸管理は従量式の人工呼吸（アコマ動物用人工呼吸器 Assist，アコマ医科工業，東京）にて行った。1 回換気量は 15 mL kg^{-1} とし、終末呼気二酸化炭素分圧（$P_E'CO_2$）が 40-50 mmHg となる様に呼吸回数を調節した。以降は実験を通して人工呼吸設定は一定に維持した。多機能麻酔モニター（DYNASCOPE DS-8400，フクダ電子，東京)を用いて、ETISO（%）、$P_E'CO_2$（mmHg）、経皮的動脈血酸素飽和度（%）、II 誘導心電図、直腸温（℃）をモニタリングした。直腸温は 35.5-37.0℃となる様に温風マットを用いて維持した。

頸静脈及び大腿動脈の直上皮膚を剃毛後、ポピドンヨードにて消毒し、2%リドカイン（キシロカイン注射液「２％」エピレナミン（1：80000）含有，サンド，東京）による局所麻酔を実施した。ダブルルーメンの肺動脈カテーテル(5 Fr, 75 cm; Swan-Ganz thermodilution catheter, Edwards Lifesciences Corp., CA, USA) を 6 Fr のシースーを

用いた Seldinger 法により、頸静脈へ滅菌的に挿入した。圧トランスデューサ（DX-360, 日本光電工業，東京）を肺動脈カテーテルに接続し、圧波形を麻酔モニター（DYNASCOPE DS-8400）に出力した。肺動脈カテーテル遠位ポートから測定した圧波形を用いて、肺動脈カテーテル先端を肺動脈まで進め留置した。近位ポートは中心静脈圧（CVP）の連続的測定、混合静脈血採血、CO 測定時に利用した。遠位ポートは肺動脈楔入圧（PAOP）の測定に利用した。温度センサー付き大腿動脈カテーテル（4 Fr, 16 cm; PiCCO Catheter PV2014L16, Getinge, Sweden）を Seldinger 法により、大腿動脈へ滅菌的に挿入し、圧トランスデューサ(PiCCO Monitoring Kit PV8215, Getinge)及び PiCCO システム(PulsioFlex PC4000, Getinge)に接続した。心拍数（HR）は大腿動脈の圧波形解析を用いて連続的に測定した。肺動脈カテーテル及び大腿動脈カテーテルはヘパリン加生理食塩水にて連続的にフラッシュし、カテーテルに接続している全ての圧トランスデューサーは右心房の高さでゼロ点校正を実施した。

血液ガス分析関連項目［pH、ヘマトクリット値、酸素分圧、二酸化炭素分圧、重炭酸イオン濃度（HCO^{3-}）、混合静脈血酸素飽和度（$ScvO_2$）］（GEM Premier 5000，アイ・エル・ジャパン，東京）及び乳酸濃度測定（Lactate Pro2，アークレイ，京都）は大腿動脈及び肺動脈カテーテルから動脈血及び混合静脈血を同時に採取し、採取後 1〜2 分以内に測定を実施した。

CO は、肺動脈カテーテルの近位ポートより 5 mL の冷生理食塩水（0-1℃）を急速注入し、大腿動脈の血液温度変化を記録する事で CO を算出する経肺熱希釈法により測定した。CO 測定は 3 回以上実施し、差が 10%未満の 3 つの測定値から平均値を算出した。左室前負荷指標である心臓拡張末期容量（GEDV）[4, 33] を CO 測定時の熱希釈曲線から求めた。1 回拍出量（SV）は、HR と CO から算出した。

体表面積、心係数（CI）、体血管抵抗指数（SVRI）、1 回拍出量係数（SVI）、酸素運搬量指数（DO_2I）、酸素消費量指数（VO_2I）、シャント率（Qs/Qt）を一般的な算出式 [20] を利用して計算した。血中ヘモグロビン濃度 (Hb)（Hb＝0.34×ヘマトクリット値）は血液ガス分析により測定したヘマトクリット値から算出した。有効動脈エラスタンス（Ea）は既報 [16] に則り算出［Ea= 0.9×収縮期血圧(SAP)/SV］した。混合静脈血-動脈血二酸化炭素分圧較差（PCO_2 gap）は、以下の式から算出した；PCO_2 gap＝混合静脈血二酸化炭素分圧（$PvCO_2$）-動脈血二酸化炭素分圧（$PaCO_2$）[40]。心臓の収縮力指標である心機能指数（CFI）及び全駆出率（GEF）は、以下の式から算出した；CFI=CO/GEDV、GEF=4×SV×100/GEDV。

2.3 実験手順

ノルアドレナリンの心血管系機能指標系への影響を 0.05（NA0.05）、0.125（NA0.125）、0.25（NA0.25）、0.5（NA0.5）、1.0（NA1.0）、2.0（NA2.0）μg kg^{-1} $minute^{-1}$ の 6 つの用量について、NA0.05 から漸増する形で連続的に検討した。すべてのカテーテルを留置した後、自発呼吸の完全消失を目的に、ロクロニウム（0.5 mg kg^{-1}；エスラックス静注, MSD, 東京）を静脈内投与後、持続点滴（0.5 mg kg^{-1} $hour^{-1}$）した。ロクロニウム投与から、少なくとも 15 分間の安定化時間を設けた後、MAP、SAP、拡張期血圧（DAP）、HR、$P_E'CO_2$、CVP、及び PAOP のベースライン（BL）値を記録した。続いて、血液ガス分析と乳酸濃度測定のために、動脈血と混合静脈血を同時に採取した。最後に、経肺熱希釈法による CO 測定を実施した。全ての測定が終了した後、ノルアドレナリン（ノルアドレナリン,アルフレッサファーマ, 大阪）投与を 0.05 μg kg^{-1} $minute^{-1}$ で開始した。ノルアドレナリンを 15 分間投与した後、再度上記の順でデータサンプリングを繰り返した。測定中に自発呼吸が発生した場合は、ロクロニウム（0.1 mg kg^{-1}）を投与し、持続点滴を 1 mg kg^{-1} $hour^{-1}$ まで増量した。ロクロニウムを投与した場合、少なくとも 5 分間の安定化時間を経てから測定した。全ての測定完了後、ノルアドレナリンの用量を増量した。この一連のプロセス（15 分間投与、測定、増量）を、6 回（0.05、0.125、0.25、0.5、1.0、2.0 μg kg^{-1} $minute^{-1}$）繰り返した。2.0 μg kg^{-1} $minute^{-1}$ での測定が終了した後、ノルアドレナリンの投与を中止した。

ノルアドレナリンの投与中止後、すべてのカテーテルを抜去した。ブプレノルフィン（0.03 mg kg^{-1} 筋肉内投与；レペタン注, 大塚製薬, 東京）とスガマデクスナトリウム（8 mg kg^{-1} 静脈内投与；ブリディオン, 大塚製薬）を投与した後、イソフルランを中止し、犬を麻酔から覚醒させた。犬が自力歩行可能になったことを確認し、犬舎に戻した。

2.4 統計解析

統計解析には無料統計解析ソフトである EZR(埼玉医療センター, 自治医科大学, 埼玉)を用いた。全ての結果は中央値（四分位範囲）で表記した。各ノルアドレナリン用量間における差は Frideman 検定を用いて解析した。Post hoc 検定にはウィルコクソンの順位和検定を用いた。全ての統計解析において有意水準は 0.05 を用いた。本研究では同じ犬から繰り返し測定を実施しているため、過剰補正によるタイプ２エラー[47]を防ぐために多重比較での有意水準補正は実施しなかった。

3.結果

6 頭全ての犬が合併症なく実験を完遂した。実験開始からノルアドレナリン投与までの時間は 142（122-150）分であり、挿管してから NA2.0 の測定が終了するまでの麻酔時間は 318（301-327）分であった。ETISO はそれぞれ BL；1.7 (1.6–1.9)%、NA0.05；1.8 (1.7–1.9)%、 NA0.125；1.8 (1.7–1.9)%、NA0.25；1.7 (1.6–1.8)%、NA0.5；1.6 (1.5–1.7)%、NA1.0；1.6 (1.5–1.7)%、NA2.0；1.7 (1.5–1.7) %であった。6 頭中 5 頭で実験中に自発呼吸を認めたため、ロクロニウムの追加投与を実施した。

3.1 心血管系機能指標

CI と MAP はノルアドレナリンの投与により用量依存性に増加した（図 1 a 及び b）が、BL と NA0.05 との間に有意差は認められなかった（CI p=0.156、MAP p=0.178）。SVRI については Frideman 検定にて有意な差は認められなかった（p=0.283、図 1c）。SVI は NA0.125 以上の用量で BL と比較して有意に高値であった（図 1d）。HR は NA2.0 において BL 及び NA0.25 以下の用量と比較して有意に高値であった（p=0.031、図 1e）。

残りの心血管系機能指標について表 1 に示した。SAP 及び DAP については MAP と同様に用量依存性に増加した。Ea は NA2.0 において BL 及び NA0.5 以下の用量と比較して有意に高値であった（p = 0.031）。CVP、PAOP 及び GEDVI については Frideman 検定にて有意な差は認められなかった。CFI 及び GFI は用量依存性に増加し、特に NA2.0 における CFI [13.4 (11.5–17.3)]は BL [6.9 (6.4–8.6)]と比較して約 2 倍まで増加した。

3.2 血液ガス検査関連指標及び乳酸値

血液ガス検査結果とそれに関連する算出項目及び乳酸の結果について表 2 に示した。NA2.0 における Hb 測定が機械エラーにより 1 頭の犬で実施できなかったため、DO_2I 、VO_2I 及び Hb の統計解析から NA2.0 は除外した。ノルアドレナリンの投与は用量依存性に Hb と DO_2I を増加させたが、VO_2I に有意な差は認められなかった。$ScvO_2$ は全ての用量において正常値である 60%よりも高値であり、NA0.25 以上の用量において BL と比較して有意に高値であった。乳酸は NA1.0 及び NA2.0 において BL 及び NA0.25 以下の用量と比較して有意に低値であった。6 頭中 1 頭でのみ乳酸の正常値（< 2.0 mmol L^{-1}）を超える値（2.5 mmol L^{-1}）が NA0.5 において計測されたが、NA0.5 以上の用量に

おいては正常範囲内まで低下した。NA0.25 以上の用量において $PaCO_2$ 及び $P_{E'}CO_2$ は用量依存性に増加し、pH は用量依存性に低下した。HCO^{3-}、Qs/Qt 及び PCO_2 gap は Frideman 検定にて有意な差は認められなかった。

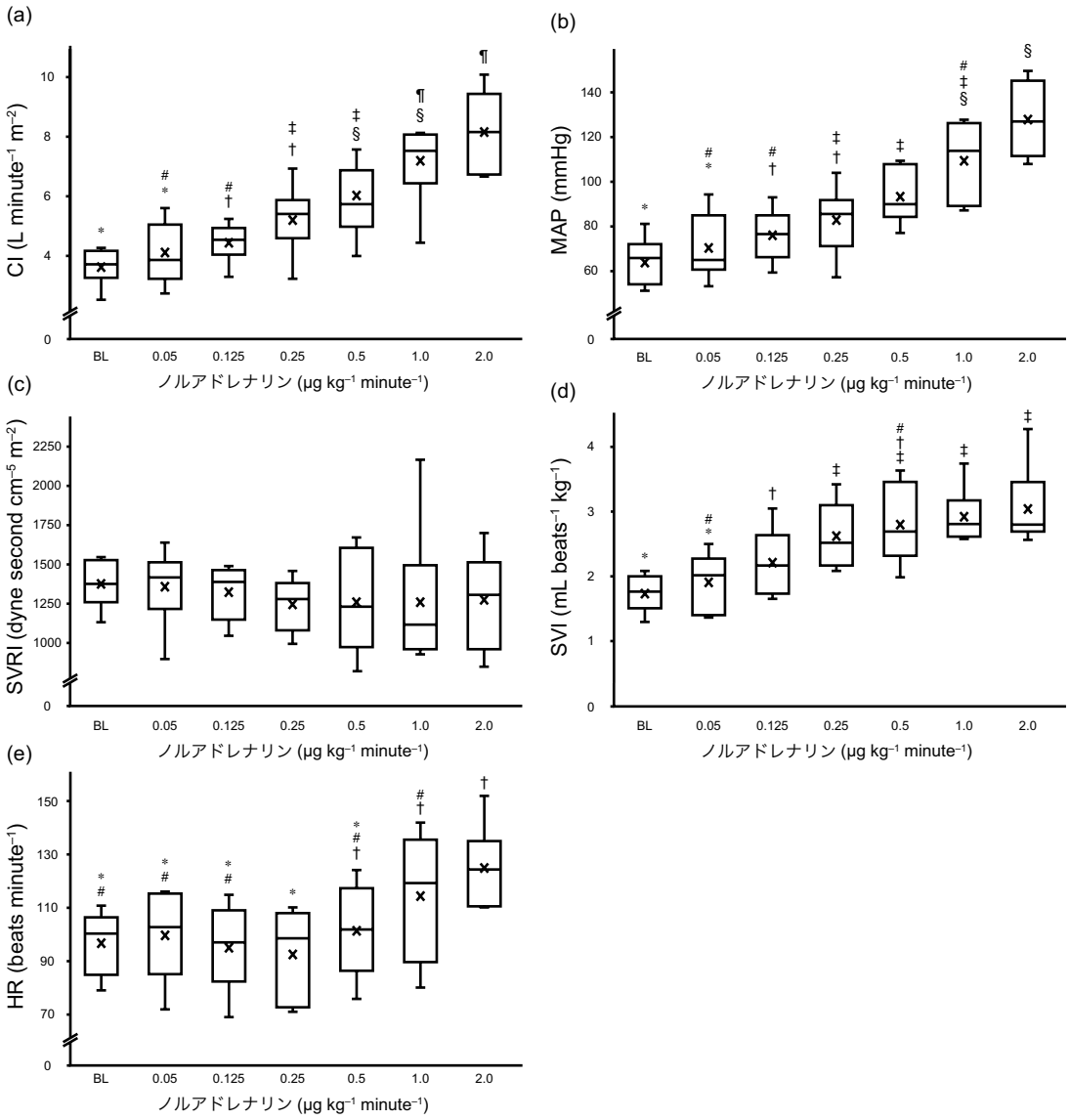


図 1　ノルアドレナリン投与前（BL）及び漸増投与（0.05, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 μg kg^{-1} minute^{-1}）後の（a）CI、（b）MAP、（c）SVRI、（d）SVI 及び（e）HR の変化

箱ひげ図の箱は測定値の第 1 四分位数から第 3 四分位数までを含み、箱内部に中央値（線）と平均値（×印）をそれぞれ記した。測定値の最大値-最小値の範囲はひげを用いて示した。図内に記号（*# † ‡ §¶）がない測定項目は、Friedman 検定による用量間比較に有意差がないことを示している。同じ記号を有する用量同士は post hoc 検定による用量間比較に有意差がないこと示している。同じ記号を全く有さない用量同士は post hoc 検定による用量間比較有意差がある（$p < 0.05$）ことを示している。

.

表 1　ノルアドレナリン投与前（BL）及び漸増投与（0.05, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 μg kg^{-1} minute^{-1}）後の心血管系機能指標

測定項目	BL	NA0.05	NA0.125	NA0.25	NA0.5	NA1.0	NA2.0
Ea (mmHg mL^{-1})	4.7 (4.3-4.8)^{a}	4.6 (3.9-4.9)^{a}	4.8 (4.0-4.9)^{a}	4.4 (4.1-4.7)^{a}	4.8 (4.1-5.3)^{a}	5.3 (4.8-5.7)^{ab}	5.6 (5.4-6.9)^{b}
SAP (mmHg)	96 (83-98)^{a}	96 (89-111)^{a}	111 (109-111)^{ab}	126 (120-134)^{bc}	144 (140-146)^{d}	170 (155-171)^{cde}	205 (184-221)^{e}
DAP (mmHg)	48 (43-51)^{a}	48 (44-59)^{ab}	57 (50-59)^{b}	62 (54-63)^{bc}	64 (60-65)^{c}	83 (60-91)^{abc}	91 (74-97)^{bc}
CVP (mmHg)	3 (2-3)	3 (2-3)	4 (3-4)	3 (2-4)	3 (1-5)	4 (2-5)	3 (1-4)
PAOP (mmHg)	6 (5-6)	6 (4-6)	7 (5-7)	7 (5-8)	6 (4-7)	7 (3-7)	8 (7-8)
GEF (%)	29 (27-36)^{a}	32 (28-35)^{a}	33 (31-41)^{b}	37 (35-44)^{cd}	43 (38-51)^{cd}	44 (43-47)^{c}	42 (40-45)^{d}
CFI (minute^{-1})	6.9 (6.4-8.6)^{a}	7.6 (6.7-8.8)^{a}	8.3 (7.6-9.1)^{ab}	9.5 (8.6-11.2)^{b}	12.2 (10-12.5)^{b}	14.6 (13.1-15.4)^{c}	13.4 (11.7-16.6)^{c}
GEDVI (mL m^{-2})	478 (430-480)	541 (442-602)	519 (495-522)	526 (471-553)	537 (515-560)	517 (502-527)	580 (544-587)

測定値は中央値（四分位範囲）で示した。上付き文字（a-e）のない測定項目については Friedman 検定による用量間比較に有意差がないことを示している。同じ文字を有する用量同士は post hoc 検定による用量間比較に有意差がないこと示している。同じ文字を全く有さない用量同士は post hoc 検定による用量間比較で有意差がある（$p < 0.05$）ことを示している。

表２　ノルアドレナリン投与前（BL）及び漸増投与（0.05, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 μg kg^{-1} minute^{-1}）後の血液ガス検査関連項目及び乳酸値

測定項目	BL	NA0.05	NA0.125	NA0.25	NA0.5	NA1.0	NA2.0
Hb (g dL^{-1})	9.8 (9.6-10.1)^{a}	9.6 (9.4-9.8)^{a}	9.8 (9.2-10.4)^{ab}	10.5 (10.1-10.8)^{a}	11.4 (11.0-11.5)^{b}	12.6 (12.2-13.2)^{c}	13.6 (13.6-14.0)*
DO_2I (ml minute^{-1} m^{-2})	553 (540-597)^{a}	582 (510-770)^{ab}	714 (621-771)^{b}	871 (836-914)^{c}	1096 (923-1196)^{c}	1405 (1295-1427)^{d}	1446 (1371-1463)*
VO_2I (ml minute^{-1} m^{-2})	78 (67-79)	80 (76-84)	99 (87-104)	116 (65-117)	83 (69-84)	81 (55-86)	87 (63-89)*
$ScvO_2$ (%)	94 (92-96)^{a}	95 (92-97)^{ab}	95 (93-98)^{b}	97 (95-99)^{b}	98 (97-100)^{b}	98 (97-100)^{b}	98 (97-100)^{b}
乳酸(mmol L^{-1})	1.4 (1.2-1.4)^{a}	1.4 (1.2-1.5)^{a}	1.5 (1.3-1.7)^{a}	1.4 (1.0-1.5)^{a}	0.6 (0.6-1.1)^{ab}	0.6 (0.5-0.7)^{b}	0.6 (0.5-0.6)^{b}
Qs/Qt(%)	10.9 (8.3-12.2)	9.0 (6.5-11.5)	7.7 (4.4-9.1)	12.2 (9.6-12.4)	11.5 (7.7-14.7)	9.8 (7.7-14.7)	7.9 (2.0-13.6)
pH	7.29 (7.27-7.32)^{a}	7.3 (7.28-7.31)^{a}	7.23 (7.22-7.25)^{b}	7.22 (7.21-7.24)^{bc}	7.22 (7.20-7.22)^{cd}	7.19 (7.18-7.20)^{d}	7.15 (7.13-7.15)^{e}
HCO^{3-} (mEq L^{-1})	22.6 (21.8-23.4)	23.0 (21.4-23.7)	22.4 (21.9-23.2)	23.3 (22.0-23.8)	22.4 (21.7-23.8)	22.4 (22.0-23.4)	22.2 (21.7-23.5)

表２の続き

Variable	BL	NA0.05	NA0.125	NA0.25	NA0.5	NA1.0	NA2.0
$PaCO_2$ (mmHg)	47 (45-47)[a]	47 (45-51)[a]	50 (47-51)[a]	52 (47-53)[ab]	54 (50-54)[bc]	56 (55-58)[c]	61 (60-61)[d]
PCO_2 gap (mmHg)	8 (7-10)	8 (2-9)	7 (6-7)	4 (4-5)	4 (4-5)	4 (3-5)	3 (3-4)
$P_E'CO_2$ (mmHg)	45 (43-46)[a]	45 (45-46)[a]	46 (45-47)[a]	47 (46-49)[b]	51 (48-52)[c]	55 (52-56)[d]	62 (57-62)[e]

測定値は中央値（四分位範囲）で示した。上付き文字（a-e）のない測定項目については Friedman 検定による用量間比較に有意差がないことを示している。同じ文字を有する用量同士は post hoc 検定による用量間比較に有意差がないこと示している。同じ文字を全く有さない用量同士は post hoc 検定による用量間比較で有意差がある（$p < 0.05$）ことを示している。*：n=5 からの測定であるため統計解析からは除外された測定項目。

4.考察

本研究の目的は、イソフルラン麻酔下の健常犬においてノルアドレナリン投与による心血管系への影響を評価することである。ノルアドレナリンは用量依存的に MAP と CI を増加させたが、SVRI に有意な差は認められなかった。MAP、CO、体血管抵抗（SVR）の関係（MAP=CO×SVR）から、イソフルラン麻酔下の健常犬において、ノルアドレナリンは SVR ではなく CO を増加させることによって MAP を増加させると考えられる。また、全身的な酸素需給バランスの指標である乳酸濃度や VO_2 は、実験を通して変化しなかった。したがって、ノルアドレナリンが全身の組織灌流及び酸素供給を妨げるほどの著しい血管収縮を引き起こした可能性は低いと考えられる。

本研究において、NA2.0 における Ea の増加を除いて、血管収縮の指標である SVRI と Ea は用量間の比較において有意な差は認められなかった。しかし、この結果から NA2.0 以下での血管収縮を否定する事はできない。その理由として、第一に、どちらも他の測定項目から算出された値であることが挙げられる。例えば、SVRI は CO と MAP から算出される。そのため、CO と MAP それぞれの測定によるわずかな誤差やばらつきが、最終的な SVRI の算出値に大きな影響を与える可能性がある。第二に、どちらも直接血管抵抗を測定したわけではないことが挙げられる。Fick の原理から抵抗（SVRI・Ea）は圧（MAP・SAP）を流量（CO・SV）で除すことで算出される。そのため、流量が圧以上に増加する状況では計算上の抵抗値は変化しない。つまり、真の血管抵抗は増大していても計算上の血管抵抗は流量の上昇によりマスクされうる。本研究ではノルアドレナリンの投与により CO や SV が MAP や SAP とともに増加した。よって、SVRI や Ea が実際の血管抵抗を正確に反映していない可能性がある。以上のことから、ノルアドレナリンを投与する場合、特に高用量では血管収縮の影響を考慮すべきである。

過去の敗血症モデルを用いた研究でも、ノルアドレナリン投与は MAP を増加させたが、CO 及び SVR への影響はさまざまであった [3, 26, 41]。Peng らのハロタン麻酔下の敗血症モデル犬を用いた研究 [41] では、ノルアドレナリン投与は MAP 及び SVR を用量依存性に増加させたが、CO に有意な変化はなかった。本研究結果との相違は、実験に用いたモデル犬における心血管系機能の相違に起因していると考えられる。敗血症では、相対的/絶対的な循環血液量低下、血管拡張及び心機能低下といった多様な心血管系機能の変化が生じている [30]。また、敗血症ではカテコラミンへの反応性が低下することも報告されている [50]。このように、敗血症モデルにおける心血管系機能の変化は非常に複雑であるため、本研究では過去の研究と異なる結果となった可能性がある。

Frank-Starling の法則より CO は静脈還流量と一致するため、本研究では静脈還流量を直接測定していないものの、CO の増加に伴い静脈還流量も増加したと考えられる。過去のペントバルビタール麻酔モデル犬を用いた研究でも、ノルアドレナリン投与は静脈還流量を増加させた [2, 23]。これは、α1 受容体を介した静脈血管の収縮により、平均血管体

充満圧及び静脈灌流圧が増加したためと考えられる。前負荷は拡張末期に心室筋がどの程度引き伸ばされるかによって規定されるため、静脈還流量の増加は前負荷を増加させる。一方で、本研究では CVP、PAOP、GEDV などの前負荷指標は有意に変化しなかった。静脈還流量増加が前負荷指標増加につながらなかった理由としては、心臓の拡張能や収縮能などのその他の前負荷規定因子の影響を受けたためと考えられる。

MAP と同様に、ノルアドレナリンは用量依存的に SAP を増加させた。SAP は大動脈の収縮末期圧と近似するため、ノルアドレナリン投与により左心室の後負荷は用量依存性に増加したと考えられる。しかし、後負荷の増加にもかかわらず、SV や CO は増加した。前負荷指標が有意に変化しなかったことを考慮すると、ノルアドレナリン投与による SV 増加は心収縮力の増加によるものと考えられる。ブタの心原性ショックモデル[5]やラットの敗血症性ショックモデル[12]では、ノルアドレナリン投与により低血圧と心機能の両方が有意に改善されることが報告されている。本研究においても心収縮力の指標である CPI 及び GEF は、高用量のノルアドレナリン投与により有意に増加している。心筋に発現するα1 受容体の活性化に依存して心収縮力は増強される事が報告されており[59]、本研究でもノルアドレナリン投与による心筋のα1 受容体刺激作用が心収縮力増加及び心拍出量増加につながった可能性がある。

これまで報告されている HR に対するノルアドレナリンの影響は報告によって様々である[26, 41]。本研究では、高用量（1.0 μg kg^{-1} minute^{-1} 以上）において HR が上昇した。ノルアドレナリンは弱いβ1 受容体刺激作用を有しているため、受容体の選択性の違いや占拠度合いの結果として、より高用量でのみ陽性変力作用が認められたと考えられる。

本研究では Hb が用量依存性に増加した。Hb は血漿量と逆相関することから[38]、ノルアドレナリン投与により血漿量が低下したと考えられる。毛細血管の透過性が亢進したラットと正常個体においてノルアドレナリンの血漿量への影響を比較検討した研究では、両者においてノルアドレナリン投与は血漿量を減少させた[11]。この研究で著者らは、ノルアドレナリン投与が毛細血管静水圧を上昇させた結果、Staring の法則により血管からの血漿漏出量が増加したと考察している。Hb 上昇の他の要因としては、ノルアドレナリン投与による圧依存性ナトリウム利尿や脾臓の血管収縮などが挙げられる[39]。

ノルアドレナリン投与は本研究において DO_2 を用量依存性に増加させたが、VO_2 を有意に変化させなかった。VO_2 は全身の代謝活動により変化するが、酸素需給バランスにも影響される。酸素要求量に対して DO_2 が低い場合（酸素供給＜酸素消費）、VO_2 は DO_2 の増加に依存して増加する。一方で、酸素要求量に対して DO_2 が十分であれば（酸素供給＞酸素消費）、DO_2 が増加しても VO_2 は DO_2 に依存せず一定である。また、同じく酸素需給バランスの指標である $ScvO_2$ は実験を通して約 95%であり、正常下限値(65%)[56]よりもはるかに高かった。以上のことから、DO_2 は酸素要求量に対して、十分もしくは過剰に高かった可能性がある。

全身循環と局所循環は一様ではないため、全身循環が良好な場合でも局所的な血流分布異常が起こりうる。血流が低下した領域では酸素供給が低下するため、嫌気呼吸により CO_2 が産生される。このような局所循環の異常により PCO_2 gap は増大するとされている[40]。本研究では PCO_2 gap に変化が認められなかったことから、末梢組織レベルにおいても酸素供給が著しく損なわれている可能性は低いと考えられる。

本研究では、人工呼吸器の設定が一定であったにもかかわらず、$PaCO_2$ が上昇し、呼吸性アシドーシスが生じた。Qs/Qt や $PaCO_2$ と $P_E'CO_2$ との差に変化がないことから、無気肺や死腔換気の割合は実験を通して変化していないと考えられる。したがって、$PaCO_2$ の増加は絶対的低換気（肺胞低換気）によるものではなく、相対的低換気によるものと推測される。原因としてはまず組織における CO_2 産生の亢進があげられる。過去の報告においてカテコラミンは代謝を亢進することが報告されている[49]。しかし、本研究では VO_2 の増加を認めていないので好気呼吸による CO_2 産生増加の可能性は低い。他の要因としては CO_2 産生の増加を伴わずに静脈血中の CO_2 分圧を上昇させる静脈鬱血が挙げられる[40]。ノルアドレナリンによる静脈血管抵抗の増大が毛細血管レベルでの血液鬱滞を引き起こし、組織からの CO_2 排泄を低下させた可能性は否定できない。

本研究にはいくつかの限界がある。第一に、CI や MAP などの心血管系機能指標に統計学的有意差は認めたものの、サンプルサイズは小さい。第二に、本研究は用量を漸増する研究デザインだが、麻酔時間が長くなることでベースラインの心血管系機能やノルアドレナリンへの反応性が変化した可能性がある。敗血症性ショックや麻酔前投薬の併用などによりベースの心血管系機能が異なる場合もノルアドレナリンへの反応性が変化し得るため、臨床例への本研究結果の単純な外挿には注意が必要である。第三に、高炭酸ガス血症の影響が挙げられる。高炭酸ガス血症は血管拡張を引き起こし、SVR を低下させるが、同時に交感神経を刺激することで HR を上昇させる。また、呼吸性アシドーシスは心収縮力を低下させ、カテコラミンへの親和性を低下させる[57]。人工呼吸設定変更による循環への影響を除外するため、本研究では実験を通して一貫した設定を用いたが、高炭酸ガス血症と呼吸性アシドーシスによりノルアドレナリンへの反応性が変化した可能性は否定できない。第四に、本研究では心機能指標及び血管抵抗に関して直接的な測定はしていない。CFI 及び GEF は心収縮力評価のためのゴールドスタンダードな方法ではない。いずれの値も前負荷や後負荷にも影響されるため、純粋な心収縮力の変化を捉えられていない可能性がある。先述したように、SVRI や Ea に関しては算出値であり、血管収縮の程度を必ずしも反映しない場合がある。第五に、本研究はノルアドレナリンが全身循環に及ぼす影響の

みの検討である。全身麻酔中においても全身循環と末梢循環がパラレルに変動しないことが報告されており[24]、末梢循環へのノルアドレナリンの影響も検討する必要がある。

第２章

イソフルラン麻酔下の健常犬において

ノルアドレナリン投与が局所循環に及ぼす影響の検討

-造影超音波検査による局所血流解析-

1.諸言

最も一般的な全身麻酔の合併症である低血圧は、臓器血流の低下につながる可能性がある。よって、麻酔中は、臓器血流を維持するために MAP を維持する必要がある。一方で、十分な MAP の維持は臓器血流の維持の必要条件であって、十分条件ではない。MAP は CO と SVR によって規定される（MAP＝CO×SVR）。CO は SV と HR に依存し、SV は左心系における前負荷・後負荷・心収縮力によって決まる。例えば、過剰な血管収縮薬（＝SVR の増大）により MAP が維持されている場合、臓器血管抵抗も増大する事で臓器血流は逆に低下している可能性もある。

MAP と CO が分かれば SVR を算出可能だが、小動物の臨床例で麻酔中に CO を経時的にモニタリングすることは困難である。また、SVR は全身における血管抵抗の合計であり、局所の血管抵抗を必ずしも反映しない。つまり、MAP を始めとする全身循環の指標は臓器血流の指標として万能ではない。さらに、全身循環と局所循環がパラレルに変動しない病態も報告されており[24]、臓器障害の原因の一つであると考えられている。医学領域では特に敗血症のような重症患者において、MAP をはじめとする全身循環指標に改善が得られても局所循環が改善されない患者は予後が悪いと報告されている[25]。

第 1 章の研究においてノルアドレナリンは CO を増加させることで MAP を増加させることが明らかとなった。また、CO や全身的な酸素運搬を阻害するほどの過剰な血管収縮を起こしている可能性も低いと考えられる。一方で先述したとおり、第 1 章では全身循環への影響しか検討しておらず、実際の臓器血流をはじめとする局所循環への影響は検討できていない。高用量では間接的な血管収縮指標の増加が認められたことやノルアドレナリンが強力なα1 受容体作用を有することからも、局所的な血管収縮やそれに伴う臓器血流の低下が起きている可能性は否定できない。さらに、循環作動薬が臓器血流に及ぼす影響は病態[9]や臓器[43]によっても異なる事が明らかになっている。よって、全身循環への影響とは別に臓器血流に及ぼす影響についても検討が必要である。

これまで敗血症モデル犬[41]やペントバルビタール麻酔モデル犬[3]を用いてノルアドレナリンが臓器血流に及ぼす影響については検討されている。しかし、イソフルラン麻酔下で検討した研究は存在しない。過去の実験モデルとイソフルラン麻酔モデルではベースとなる心血管系機能が異なるため、臓器血流に及ぼす影響も異なる可能性がある。よって、より臨床的な全身麻酔の条件を用いた上で、臓器血流に及ぼす影響を検討することは非常に重要である。

臓器血流の測定には Fick の原理を利用した色素希釈法やドプラ効果を利用した超音波血流計[8]やレーザー血流計[28]が用いられる。しかし、測定機器設置の侵襲が大きく、臨床例で利用することは困難である。また、動物実験でも外科的介入と鎮痛剤を含めた全身麻酔が必要となるため、結果を単純に臨床例へ外挿できないことも問題となる。よって、臨床応用が可能で低侵襲な臓器血流モニターを利用し、臓器血流を定量的に評価することが望ましい。

造影超音波検査(CEUS)は組織灌流を評価する低侵襲な方法として近年注目されている[14, 18, 28, 44]。CEUS に用いられる造影剤の一つであるソナゾイドは赤血球と同程度の大きさのマイクロバブルであり、血管内では赤血球と同じ流動特性に従う。よって、ソナゾイドを静脈内に投与すると、右心に還流後、肺血管を通過し、左心系から全身の毛細血管まで運搬される。照射した超音波が血管内のマイクロバブルによって反射される事を利用し、CEUS では関心領域（ROI）における血流情報を評価することが可能となる。獣医学領域では腫瘍性疾患の診断に CEUS の造影パターンを利用した研究が多数報告されている[36, 37]。また、CEUS では超音波画像内の ROI における時間造影輝度曲線（TIC）を作成する事で、血流量を定量的に評価することが可能である。実際に、CEUS の各種パラメータはゴールドスタンダードで測定された臓器血流と良好な相関を示す[58]。CEUS を用いてアドレナリンα2 受容体作動薬であるメデトミジンの臓器血流への影響を検討した研究では、メデトミジン投与により臓器の造影強度が大きく低下することが報告されている[45]。さらに、CEUS では同じ画面内の複数臓器を同時に検査が可能である。臓器血流の自動調節能[31]や循環作動薬への反応性[8]は臓器によって異なるため、CEUS は臓器血流評価に有用なツールであると言える。

以上のことから、本研究の第 2 章における目的は、イソフルラン低血圧モデルを用いて、ノルアドレナリンが臓器血流に及ぼす影響を CEUS により評価することである。本章の仮説は、イソフルラン麻酔下の健常犬においてノルアドレナリン投与は局所循環を阻害しないというものだ。

2.方法

2.1 使用動物

未避妊雌の健常ビーグル犬 5 頭（年齢 3-4 歳、体重 9.4-11.4 kg、中央値 10.2 kg）を実験に供した。実験犬は国際実験動物管理公認協会の規定に沿って、北海道大学大学院獣医学研究院の動物施設にて飼育された。全ての実験動物はあらかじめ身体検査、全血球計算、血液生化学検査にて健常であることを確認した。また、腹部超音波検査にて十二指腸及び両側腎臓に構造的な異常がないことも確認した。全ての犬は 2 回のイソフルラン全身麻酔を受け、最低 2 週間の休薬期間をはさんだクロスオーバー形式でノルアドレナリンもしくは生理食塩水を投与された。本実験は「北海道大学動物実験委員会」による倫理審査を受けており（承認番号 18-173）、「国立大学法人北海道大学動物実験に関する規定」及び「北海道大学動物 実験実施マニュアル」の規定を遵守して実施された。

2.2 実験準備及び各種測定項目

超音波画像検査に干渉する腸内ガスや内容物を抑えるために、実験当日は麻酔導入 12 時間前から絶食としたが、飲水は制限しなかった。22 G 長さ 2.5 cm の留置針（Supercath 5, メディキット）を両側の橈側皮静脈に挿入した。プロポフォール（4–6 mg kg^{-1}; プロポフォール注 1%「マイラン」, マイラン製薬)の緩徐投与により全身麻酔を導入し、気管挿管した。呼吸器回路へと接続後、100%酸素（流量 2 L $minute^{-1}$）とイソフルラン（イソフル®, DS ファーマアニマルヘルス）にて全身麻酔を維持した。イソフルランは過去の報告 [46] を参考に、ETISO が 2.2%となるように調整し低血圧（MAP<60 mmHg）を誘発した。呼吸管理は従量式の人工呼吸（アコマ動物用人工呼吸器 Assist, アコマ医科工業）にて行った。1 回換気量は 15 mL kg^{-1} とし、$P_E'CO_2$ が 40-50 mmHg となる様に呼吸回数を調節した。以降は実験を通して人工呼吸設定は変更せずに維持した。麻酔モニター（DYNASCOPE DS-8400, フクダ電子)を用いて、ETISO（%）、$P_E'CO_2$（mmHg）、経皮的動脈血酸素飽和度（%）、II 誘導心電図、直腸温（℃）をモニタリングした。直腸温は温風マットを用いて 35.5-37.0℃で維持した。

頸静脈及び大腿動脈直上の皮膚を剃毛後、ポピドンヨードにて消毒し、2%リドカイン（キシロカイン注射液「２％」エピレナミン（1：80000）含有, サンド）による局所麻酔を実施した。頸静脈には 16 G 長さ 5 cm のカテーテルを留置した。大腿動脈には温度センサー付き大腿動脈カテーテル（4 Fr, 6 cm; PiCCO Catheter PV2014L16, Getinge）を Seldinger 法により滅菌的に挿入した。大腿動脈カテーテルは圧トランスデューサ

(PiCCO Monitoring Kit PV8215, Getinge)及び PiCCO システム(PulsioFlex PC4000, Getinge)に接続し、MAP を連続的に記録した。HR は大腿動脈の圧波形解析を用いて連続的に測定した。大腿動脈カテーテルはヘパリン加生理食塩水にて連続的にフラッシュし、カテーテルに接続している圧トランスデューサーは右心房の高さでゼロ点校正を実施した。大腿動脈カテーテル設置終了後、22 G，2.5 cm のカテーテル（Supercath 5，メディキット）を伏在静脈に留置し，乳酸リンゲル液（3 mL kg^{-1} $hour^{-1}$；ソルラクト，テルモ）及びロクロニウム（負荷用量 0.5 mg kg^{-1} 投与後、0.5 mg kg^{-1} $hour^{-1}$ で持続投与；エスラックス静注, MSD）を静脈内投与した。

CO は実験 1 と同様の手技により測定した。また、GEDVI、CI、SVRI、SVI、Ea についても実験 1 と同様の方法で算出した。

2.3 造影超音波検査

Pulse Subtraction 撮影に最適化された超音波装置（Aplio 500，キヤノンメディカルシステムズ，栃木）及び 5〜11MHz リニア型トランスデューサ（PVT-704 AT，キヤノンメディカルシステムズ）を使用した。CEUS は全て同一人物（K.K.）が実施した。CEUS では、十二指腸と右腎臓を同時に評価した（図 1）。まず、B モードで十二指腸と右腎臓の位置を確認し、画面上に両臓器を横断面で同時に描出した。この際に、小腸などの他の臓器が対象臓器に被らないように注意した。CEUS 検査の設定は、mechanical index 0.21、フレームレート 16 frame $second^{-1}$、ドプラゲイン 75、ダイナミックレンジ 45、フォーカス深さ 3 cm とした。造影剤はソナゾイド（Sonazoid®，第一三共，東京）を使用した。造影手技は以下の通りに実施した。橈側皮静脈に設置した静脈カテーテルから 21 G の翼状針と三方活栓を用いてソナゾイド（0.01 mL kg^{-1}）を単回ボーラス投与し、即座に 3 mL のヘパリン加生理食塩水をボーラス投与した。造影剤の投与は実験を通して同一人物（Y.Y.）が実施した。注入直後から 90 秒間、同一断面を継続して描出し動画データを超音波装置のハードソフトに保存した。

CEUS の定量的解析は、超音波装置にインストールされているソフトウェア Contrast Harmonic Imaging Quantification RAW Data package（キヤノンメディカルシステムズ）を用いて行った。腎皮質と十二指腸粘膜にそれぞれ 3 つの ROI（2 mm×2 mm の正方形）を設定した。腎髄質に関しては、同じ基準で ROI を設定するのが困難であったことから、本実験では評価しなかった。この時、太い血管や臓器の被膜が ROI に含まれないように注意した。腎臓と十二指腸を同時に描出することで十二指腸に 3 つの ROI を

設定できなかった場合は、2 つの ROI を設定した。同一臓器内の各 ROI はほぼ同じ深さになる様に設定した。ROI は画面上で呼吸の動きと同期して自動で移動するように調整された。各 ROI における信号強度の変化［10^{-5} arb. unit (AU)］と時間（second）の関係から先述したソフトウェアを用いて TIC を作成し以下のパラメータを得た：最大造影強度（PI）、流入曲線下面積（WiAUC）、平均到達時間（mTT）、最大到達時間（TTP）、流出曲線下面積（WoAUC）、曲線下面積（AUC）。統計解析には 3 つもしくは 2 つの ROI それぞれから得られた値の平均を用いた。

2.4 実験手順

すべてのカテーテルを設置後、犬を仰臥位に保定して、超音波検査のために最後肋骨後縁周辺を剃毛した。15 分以上の安定化時間を設けたのち、投薬前（pre）の心血管系機能指標を測定した。その後、ノルアドレナリン（0.6 μg $kg^{-1}minute^{-1}$；ノルアドレナリン,アルフレッサファーマ）（NA 群）または 0.9%生理食塩水（生食群）の投与を開始した。ノルアドレナリンの用量は MAP70 mmHg 以上に維持することを目標に、第 1 章の結果を参考に決定した。各薬剤の投与速度は 0.75 mL kg^{-1} $hour^{-1}$ に統一した。投与開始から 20 分後に先述の方法で CEUS を実施した。CO 測定による CEUS への影響を避けるため、CEUS 実施直後に CO をはじめとする循環指標の測定・記録を行った（post）。

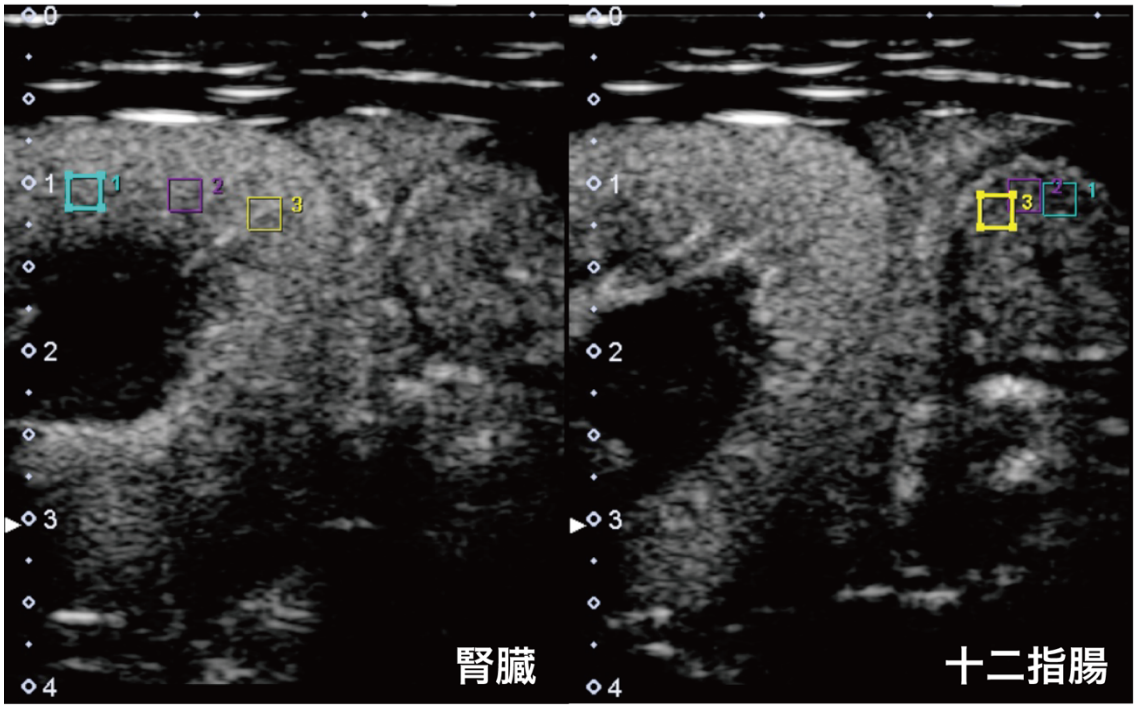
全ての測定終了後、イソフルラン以外の薬剤の投与を中止した。ブプレノルフィン（0.03 mg kg^{-1} 筋肉内投与；レペタン注, 大塚製薬）とスガマデクスナトリウム（8 mg kg^{-1} 静脈内投与；ブリディオン, 大塚製薬）を投与した。全てのカテーテルを抜去した後、イソフルランを中止し、犬を覚醒させた。犬が自力起立可能になるまで確認し、犬舎に戻した。

2.5 統計解析

統計解析には市販のソフトウェア（JMP Pro® , version 15.2.0, SAS Institute, NC, USA）を用いた。全ての結果は中央値（四分位範囲）で表記した。連続変数における正規分布の確認は、Shapiro-Wilk 検定を用いた。CEUS の測定項目については、NA 群と生食群の群間比較を行った。心血管系機能指標については、pre・post それぞれの時点における NA 群と生食群の群間比較、並びに、NA 群・生食群の各群における pre と post での群内比較を行なった。また、投与前後での心血管系機能指標の変化率を計算し、2 群間（NA 群対生食群）で比較した。正規分布している項目については対応のある *t* 検定を用いて解

析し、正規分布していない項目については Wilcoxon の符号順位和検定を用いて解析した。心血管系機能指標の解析における多重比較の補正は Holm-Bonferroni 法を用いた。すべての解析において、有意水準は 0.05 を用いた。

(a)



(b)

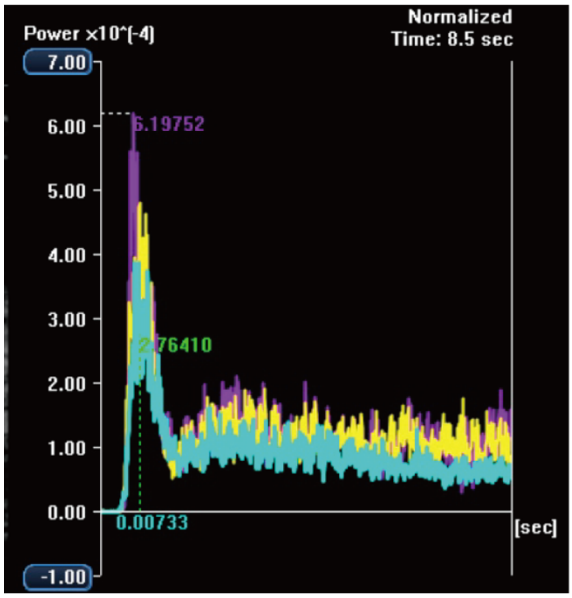


図 1 造影超音波検査画像と時間造影輝度曲線（TIC）
腎臓（a：左図）、十二指腸（a：右図）にそれぞれ 3 つの ROI を設定し、それぞれにつき TIC を作成した（b）。

3.結果

5 頭全ての犬で実験を通して合併症は認められなかった。実験開始から薬剤投与開始までの時間[生食群 78(77-88)分 ;NA 群 104(90-137)分]、CEUS 実施までの時間[生食群 105(105-118)分 ; NA 群 134 (120-166)分]に両群間で有意な差はなかった。ETISO はそれぞれ生食群 pre 2.1 (2.1-2.2)%、生食群 post 2.2 (2.1–2.2)%、NA 群 pre 2.2 (2.1-2.2)%、NA 群 2 (1.9–2.1)%であった。

ソナゾイド投与後の CEUS 画像を図 2 に示した。ソナゾイド投与直後に腎皮質と十二指腸がほぼ同時に造影された。腎臓においては腎皮質に続いて腎髄質が造影された。十二指腸においては腎髄質が造影されるタイミングにおいて主観的評価ではほとんど造影効果は認められなかった。生食群と NA 群の間で、造影パターンの主観的評価に違いは認められなかった。

3.1 心血管系機能指標

心血管系機能指標の結果を表 1 に示した。いずれの指標にも投与前後での変化率に両群間で有意な差は認められなかった。生食群の 1 頭を除き、両群ともに post で MAP は 60 mmHg を上回り、pre と比較して有意に増加した（生食群 p=0.04 ; NA 群 p=0.0072）。しかし、post 同士の比較では両群間に有意な差は認められなかった [p=0.174; NA 群 75(71-81) mmHg; 生食群 65(61-66) mmHg]。CI（p=0.019）及び DO_2I（p=0.012）については NA 群でのみ pre と比較して post で有意な増加を認めた。post 同士の比較では NA 群と生食群に差はなかった（CI p=0.101 ; DO_2I p=0.069）ものの、NA 群でより post の CI 及び DO_2I は高い傾向であった。SVI については post 同士の比較では NA 群で生食群と比較して有意に高値であった（p=0.014）。また、両群の群内比較では SVI に有意差は認められなかったものの（生食群 p=0.062 ; NA 群 p=0.062）、NA 群では pre と比較して post で SVI は高い傾向にあり、CI と同様の傾向であった。HR は両群ともに群内比較では差はなかったが、pre（p= 0.047）、post（p=0.024）ともに NA 群の方が生食群と比較して有意に高かった。SVRI、乳酸値に両群間・両群内で差は認められなかった。

3.2 造影超音波検査関連指標

CEUS 測定項目の結果を表 2 に示した。WiAUC 以外のパラメータは腎臓・十二指腸のどちらの臓器でも、両群間で有意な差はなかった。WiAUC は腎臓において生食群と比

較して NA 群で有意に低かった。一方で、十二指腸においては NA 群で有意に高く、臓器間で異なる結果であった。PI、AUC、WoAUC についても WiAUC と同様の傾向を示したが、統計的に両群間で有意な差は認められなかった。

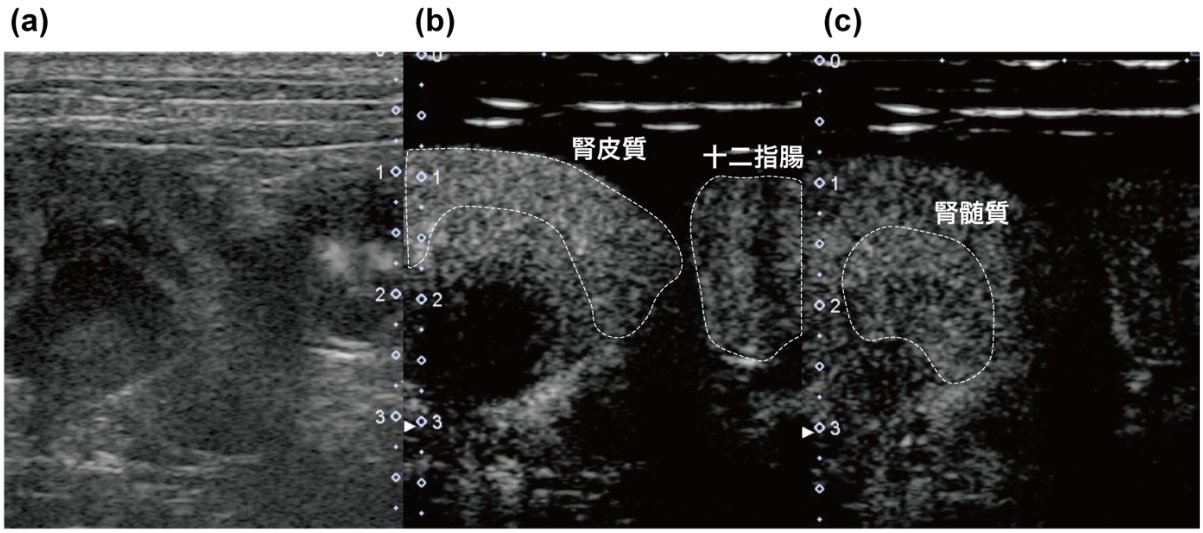


図２　造影超音波検査画像
(a)B モード画像。造影剤投与３秒前後で造影が始まり、腎臓はさらに３秒前後、十二指腸は４秒前後で最大造影輝度に達した（b）。腎臓では皮質に続いて髄質が造影増強された（c）。

表 1　生食群と NA 群における薬剤投与前後（pre・post）の心血管系機能指標

測定項目		生食群 (n=5)		NA 群 (n=5)	
		中央値	IQR	中央値	IQR
MAP (mmHg)	pre	53	51-59	53	44-57
	post	65*	61-66	75*	71-81
CI (L minute^{-1} m^{-2})	pre	3.1	2.9-3.1	2.9	2.9-3.1
	post	3.7	3.6-3.9	4.9*	4.5-5.4
SVI (mL beats^{-1} kg^{-1})	pre	1.4	1.3-1.5	1.5	1.4-1.6
	post	1.6	1.4-1.6	2.4#	2.4-2.8
HR (beats minute^{-1})	pre	110	97-114	94#	93-104
	post	111	107-113	86#	75-95
SVRI (dyne second cm^{-5} m^{-2})	pre	1289	1233-1448	1094	1092-1344
	post	1241	1180-1361	1240	1091-1389
Ea (mmHg mL^{-1})	pre	5.2	4.9-5.5	4.2	3.7-4.4
	post	4.7	4.7-5.0	4.7	4.5-4.7
DO_2I (mL minute^{-1} m^{-2})	pre	484	471-508	491	456-533
	post	670	539-673	949*	767-1008
乳酸 (mmol L^{-1})	pre	2.0	1.7-2.0	1.9	1.7-2.2
	post	2.0	2.0-2.3	2.2	1.8-2.4

＊：同一群内における投与前後(pre VS post)の比較にて有意差あり($p<0.05$)。

#：群間比較（生食 VS NA）にて有意差あり($p<0.05$)。

表２　生食群と NA 群における CEUS 測定項目

	測定項目	生食群 (n=5)		NA 群 (n=5)		p 値
		中央値	IQR	中央値	IQR	
腎皮質	PI (10^{-5} AU)	50	41-51	36	36-45	0.117
	AUC (10^{-5} AU second)	1182	1134-1502	1184	997-1536	0.470
	WiAUC (10^{-5} AU second)	104	97-109	70	57-92	0.047*
	WoAUC (10^{-5} AU second)	1077	1037-1393	1127	927-1409	0.520
	TTP (second)	3.3	3.0-3.3	3.0	2.7-3.2	0.295
	mTT (second)	5.9	4.8-7.3	5.1	4.2-5.6	0.328
十二指腸	PI (10^{-5} AU)	13	7.0-16	20	14-20	0.109
	AUC (10^{-5} AU second)	381	117-418	465	266-625	0.215
	WiAUC (10^{-5} AU second)	30	11-31	33	30-48	0.046*
	WoAUC (10^{-5} AU second)	316	108-383	432	241-576	0.172
	TTP (second)	3.0	2.7-3.2	3.1	2.9-3.7	0.172
	mTT (second)	6.9	4.6-7.8	5.3	3.8-5.5	0.462

＊：群間比較（生食 VS NA）にて有意差あり($p<0.05$)。

4.考察

第２章における目的は、イソフルラン低血圧モデルを用いて、ノルアドレナリンが臓器血流に及ぼす影響を CEUS により評価することである。本章の実験において、NA 群と生食群のどちらにおいても今回調べたほとんどの CEUS 測定項目について両群間で有意な差はなかった。ただし、WiAUC については両群間で有意な差が認められた。さらに、腎臓と十二指腸では逆の変化を呈した。以上の結果から、ノルアドレナリンの投与が CEUS で測定される臓器血流指標に大きく影響するとは言えないが、NA が臓器血流に与える影響は臓器によって異なる可能性がある。

ノルアドレナリンは α1 受容体を介した血管収縮を有しており、過剰な血管収縮による局所血流低下が懸念される [34]。本研究においては PI や AUC といった臓器血流量と相関する指標 [58] に腎臓及び十二指腸のどちらにおいても有意な差がなかった。一方で、同様にアドレナリンα受容体を介した強力な血管収縮作用を有するメデトミジンは、様々な臓器において PI を低下させることが報告されている [45]。メデトミジン投与は血管抵抗増大による血圧上昇と CO の低下を引き起こす [42] ため、PI の低下は臓器血流の低下を反映していると考えられる。これらを踏まえると、本実験で用いた用量のノルアドレナリンが生食群と比較して腎臓や十二指腸の臓器血流を著しく妨げた可能性は低いと考えられる。残念ながら本研究のデザインからは薬剤投与前後で臓器血流がどのように変化したかは不明である。また、臓器血流が保たれていることは臓器障害を起こさないことと同義ではないため、全身麻酔下の低血圧治療におけるノルアドレナリン投与と臓器障害については今後臨床例も含めた更なる検討が必要である。

WiAUC を除いて、CEUS を用いた測定項目の大部分で処置間に差はなかった。生理学的には灌流圧と血管抵抗によって臓器血流は規定されるが、一定の灌流圧の範囲内では血管抵抗が変化し臓器血流は一定に保たれる（臓器血流の自動調節能）。本研究では血圧や CO といった全身循環の指標は薬剤投与後も両群間で明らかな差は認められなかった。以上のことから、臓器血流の自動調節能が両群で働いた結果、臓器血流がある程度保たれたことで両群間に差が認められなかった可能性がある。一方で、第 1 章の研究ではイソフルラン麻酔下でノルアドレナリンの投与は用量依存性に血圧や CO を増加させた [27]。今回は一般的な低血圧治療目標値(MAP65-70 mmHg)の維持を目的にノルアドレナリンの投与量を決定した。従って、用量（高用量・低用量）や MAP の目標値、全身循環の状態（自動調節能の変化）などによっては臓器血流への影響は異なる結果となる可能性がある。

過去の敗血症モデルを用いた検討では、ノルアドレナリンによる血圧の上昇は腎血流の増加に繋がっている[41]。一方で、本研究では有意な差はなかったものの、生食群と比較してNA群では腎血流と相関するPIやAUCは低い傾向であった。過去の研究との違いについては、健常犬と敗血症モデル犬の違いが原因として挙げられる。敗血症モデルでは炎症やエンドトキシンによる血管拡張・血管透過性の亢進が全身性に起こり、血流の分布異常が起っている。また、局所循環においても毛細血管のような微小循環レベルで変化していることも示唆されている[7]。さらに、カテコラミンへの反応性も変化する[29]。これらの結果から、過去の敗血症モデルとは異なる結果に繋がったと考えられる。

本研究ではCEUSを用いた血流評価において、どちらの臓器でも唯一WiAUCでのみ処置間に有意な差がみとめられた。WiAUCは対象臓器が造影され始めてから造影がピークに達するまでのTICの曲下面積であり、臓器血流速度と血流量によって規定される。造影強度が最大から低下していく部分のTIC曲下面積であるWoAUCはどちらの臓器でも処置間で統計学的有意差はなかったが、WiAUCと同様の傾向を示した。さらに、血流量を反映するTIC全体のAUCやPI[51]についても統計学的有意差はないものの、WiAUCと同様の傾向を示した。以上のことからNA 群と生食群におけるWiAUCの差は血流量の差に起因している可能性がある。ただ、統計学的に有意な差はWiAUCでしか認められていないため、ノルアドレナリンが生理食塩水と比較して著しく臓器血流を変化させているとは考えづらい。

十二指腸におけるWiAUCはNA群で生食群と比較して高値であり、腎臓とは相反する結果であった。AUC、PI、WoAUCのいずれも統計学的有意差はなかったものの、同じ傾向を示した。先述した通り、これらの指標は血流量の影響を受ける。よって、本研究において、ノルアドレナリンが臓器血流に与えた影響は腎臓と十二指腸で異なった可能性がある。過去の犬[3]や羊[8]を用いた報告でも臓器によってノルアドレナリンが血流量に及ぼす影響が異なることが報告されている。

本章では、MAPを70 mmHg以上まで上昇させることを目標に第1章の結果からノルアドレナリンの用量を設定した。NA群において投与前後での全身循環の変化は第1章と同様であり、酸素需給バランスの悪化は認められない。一方で、今回検討した用量では生食群と比較して統計学的に差が認められた心血管系機能指標はHRとSVIのみであった。原因として第一にサンプル数が小さいことが挙げられる。MAP、CI及びDO_2Iについて有意差は認められなかったものの、NA群で高い傾向であった。第二にイソフルランの濃度が第1章の研究よりも高いことが挙げられる。イソフルランは用量依存性に循環抑制

作用を有する[32]ことから、ベースとなる心血管系機能が異なった結果、ノルアドレナリンへの反応性が第 1 章とは異なった可能性がある。第三に筋弛緩薬であるロクロニウムの影響が挙げられる。ロクロニウムは静脈内投与によって HR や血圧を増加させる可能性がある[13]。負荷用量の投与から安定化時間を設けているものの、生食群での血圧上昇にロクロニウムが影響している可能性は否定できない。また、post 同士の比較で NA 群が生食群よりも有意に HR が低かった原因としては、NA 群における血圧上昇に伴う圧受容器反射の影響が考えられる。一方で、pre においても NA 群と比較して生食群で HR が有意に低かった原因については不明である。

本研究にはいくつかの制限がある。第一にサンプル数が少ない点が挙げられる。第二に、CEUS による臓器血流評価を投与前後で実施していない点である。ソナゾイドはほとんどが肺から排泄されるが、一部はクッパー細胞により取り込まれ体内を再循環する[55]。そのため、実験中に造影剤が再循環する事で CEUS の結果に与える影響を除外するために、本研究では薬剤投与前後で CEUS の測定を実施しなかった。よって、ノルアドレナリン及び生理食塩水の投薬が臓器血流をどのように変化させたかは不明である。ただ、生食群と比較して NA 群で CEUS の臓器血流指標に有意な差がほとんどないことから、ノルアドレナリン投与の方が臓器血流を大きく低下させているとは考えづらい。第三にイソフルランの濃度が臨床例で用いられるよりも高かったことが挙げられる。イソフルランは用量依存性に循環抑制があるため[32]、臨床的なイソフルラン濃度では結果が異なる可能性がある。第四にソナゾイドは臓器血流量の半定量的指標であることが挙げられる。過去の研究においてソナザイドによる臓器血流の測定は定量的測定法と相関があるとされるが、多くの要因によって結果がばらつくことが知られている[54]。本研究では実験ごとのばらつきを極力避けるように努めたが、本研究結果と他の研究結果の比較や臨床例への外挿には注意が必要である。

結論

本研究はイソフルラン麻酔下でもノルアドレナリンの投与は全身及び局所循環の維持に有用という仮説のもと、イソフルラン麻酔下の健常犬において、ノルアドレナリンが全身及び局所循環に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。そこで、イソフルラン麻酔下の健常犬を用いて、第 1 章ではノルアドレナリン漸増投与による全身循環への影響について、第 2 章では局所循環への影響について CEUS を用いて検討した。

第 1 章における目的は臨床的なイソフルラン麻酔下においてノルアドレナリンが全身循環に及ぼす影響を明らかにすることである。本研究では、ノルアドレナリンを 0.05-2.0 μg kg^{-1} $minute^{-1}$ まで連続的に投与速度を増量して投与したところ、イソフルラン麻酔下の健常犬において用量依存性に CI と MAP が上昇した。一方で、SVRI、乳酸濃度、VO_2 には有意な変化は認められなかったことから、全身循環を著しく妨げるような血管収縮は起きていないと考えられる。以上のことから、健常犬のイソフルラン麻酔中に発生する低血圧に対して、ノルアドレナリンによる治療介入は有用であると考えられる。しかし、本研究ではノルアドレナリンの全身循環への影響の検討のみである。また、血管収縮について直接的な測定はしていないが、高用量において一部の間接的な血管収縮指標に有意な上昇が認められている。さらに、全身循環と局所循環は必ずしもパラレルに変動しないことがわかっている。そのため、第 1 章の研究結果からは局所循環においてノルアドレナリン投与が血管収縮を誘起している可能性を否定できない。医学領域では局所循環の異常が生命予後と関連することが報告されており、ノルアドレナリンが全身循環のみならず局所循環に及ぼす影響についても検討する必要があると考えられた。

第 2 章の目的としては、イソフルランによる低血圧モデル犬において、ノルアドレナリンの臓器血流への影響を CEUS により評価することであった。結果として、NA 群と生食群との間で、CEUS の臓器血流指標に有意な差は認められなかった。本実験で検討したノルアドレナリンの用量は、実際の低血圧治療での利用を想定して設定した。このことから、ノルアドレナリンが健常犬のイソフルランによる低血圧治療目的で使用される場合、生理食塩水と比較して著しく臓器血流を阻害する可能性は低いと考えられる。一方で、第 1 章の検討からノルアドレナリンは用量依存性に心血管系へ作用すると考えられるため、今回検討した用量よりも高いもしくは低い用量では異なる結果となることが予想される。また、ノルアドレナリンが臓器血流に及ぼす影響は臓器によって異なる可能性があ

る。今回は腎臓・十二指腸という限られた臓器への影響しか検討していないため、臨床的意義や周術期予後に与える影響を含めて今後更なる検討が必要である。

これまで、ノルアドレナリンは強力な血管収縮作用を有しているため、全身麻酔下での使用時は血管収縮による CO や臓器血流への影響が懸念されてきた。一方で、イソフルラン麻酔下でノルアドレナリンが心血管系に及ぼす影響を検討した研究は存在しなかった。本研究結果からは、ノルアドレナリン投与が CO や臓器血流を著しく阻害するほどの血管収縮を引き起こす可能性は低いと考えられ、イソフルラン麻酔下の低血圧治療に有用である可能性が示唆された。

謝辞

本研究と大学院課程を遂行するにあたり、常に懇切なる御指導と御鞭撻を賜りました、北海道大学　大学院獣医学研究院　獣医内科学教室　滝口満喜　教授に深く感謝致します。

本研究を遂行するにあたり、御指導と御助言をいただきました、北海道大学　大学院獣医学研究院　薬理学教室　乙黒兼一　教授、獣医内科学教室　中村健介　准教授、及び附属動物病院　田村純　准教授に深謝致します。

本研究と大学院課程の遂行のみならず、本研究に繋がる診療活動や学会発表においても幅広くご指導いただきましたVES合同会社　石塚友人　先生に心から感謝申し上げます。

また、本研究を進めるにあたり、終始有益な御助言をいただきました、酪農学園大学　獣医学群獣医学類　伴侶動物内科学　大田寛　准教授、北海道大学　大学院獣医学研究院　先端獣医療学教室　細谷謙次　准教授、森下啓太郎　助教、獣医内科学教室　佐々木東　助教、及び宮崎大学　農学部獣医学科　大菅辰幸　助教に深く感謝致します。

さらに、研究生活を送るにあたり、日々激励と御援助をいただきました、北海道大学大学院　獣医学研究院　附属動物病院　笹岡一慶　特任助教、永田矩之　特任助教、横山望　特任助教、及び酪農学園大学　田村昌大　助教、並びに同じ獣医内科学教室で博士課程を過ごした菅原芽伊　先生、Teoh Yong Bin　先生、及びThandar Oo　さんに心から感謝致します。また、実験を手伝ってくれた獣医外科学教室　佐藤敬近　先生、獣医内科学教室の後輩の皆様、そして研究に参加してくれた内科学教室の犬達にも深く感謝致します。

最後に、本研究を取り組むにあたり、日々惜しみない激励と援助を頂きました、家族、友人、愛猫、そして愛する妻に心より感謝申し上げます。

参考文献

1. Aarnes, T. K., Bednarski, R. M., Lerche, P., Hubbell, J. A. E. and Muir, W. W. 2009. Effect of intravenous administration of lactated Ringer's solution or hetastarch for the treatment of isoflurane-induced hypotension in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 70: 1345–1353.
2. Appleton, C., Olajos, M., Morkin, E. and Goldman, S. 1985. Alpha-1 adrenergic control of the venous circulation in intact dogs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 233: 729–734.
3. Bellomo, R., Kellum, J. A., Wisniewski, S. R. and Pinsky, M. R. 1999. Effects of norepinephrine on the renal vasculature in normal and endotoxemic dogs. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 159: 1186–1192.
4. Berkenstadt, H., Friedman, Z., Preisman, S., Keidan, I., Livingstone, D. and Perel, A. 2005. Pulse pressure and stroke volume variations during severe haemorrhage in ventilated dogs. *Br. J. Anaesth.* 94: 721–726.
5. Beurton, A., Ducrocq, N., Auchet, T., Joineau-Groubatch, F., Falanga, A., Kimmoun, A., Girerd, N., Fay, R., Vanhuyse, F., Tran, N. and Levy, B. 2016. Beneficial effects of norepinephrine alone on cardiovascular function and tissue oxygenation in a pig model of cardiogenic shock. *Shock* 46: 214–218.
6. Davis, H., Jensen, T., Johnson, A., Knowles, P., Meyer, R., Rucinsky, R., Shafford, H., American Association of Feline Practicioners and American Animal Hospital Association 2013. 2013 AAHA/AAFP fluid therapy guidelines for dogs and cats. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 49: 149–159.
7. De Backer, D., Donadello, K., Taccone, F. S., Ospina-Tascon, G., Salgado, D. and Vincent, J.-L. 2011. Microcirculatory alterations: potential mechanisms and implications for therapy. *Ann. Intensive Care*. 1: 27.
8. Di Giantomasso, D., May, C. N. and Bellomo, R. 2003. Norepinephrine and vital organ blood flow during experimental hyperdynamic sepsis. *Intensive Care Med.* 29: 1774–1781.
9. Di Giantomasso, D., Morimatsu, H., May, C. N. and Bellomo, R. 2004. Increasing renal blood flow: low-dose dopamine or medium-dose norepinephrine. *Chest* 125:

2260–2267.

10. Dixon, A. and Fauber, A. E. 2017. Effect of anesthesia-associated hypotension on neurologic outcome in dogs undergoing hemilaminectomy because of acute, severe thoracolumbar intervertebral disk herniation: 56 cases (2007–2013). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 250: 417–423.
11. Dubniks, M. and Grände, P. O. 2008. Change in plasma volume from a state of hyper-, normo- or hypovolemia with or without noradrenalin infusion in the rat. *Microvasc. Res.* 76: 75–79.
12. Ducrocq, N., Kimmoun, A., Furmaniuk, A., Hekalo, Z., Maskali, F., Poussier, S., Marie, P. Y. and Levy, B. 2012. Comparison of equipressor doses of norepinephrine, epinephrine, and phenylephrine on septic myocardial dysfunction. *Anesthesiology* 116: 1083–1091.
13. Dugdale, A. H., Adams, W. A. and Jones, R. S. 2002. The clinical use of the neuromuscular blocking agent rocuronium in dogs. *Vet. Anaesth. Analg.* 29: 49–53.
14. Emanuel, A. L., Meijer, R. I., van Poelgeest, E., Spoor, P., Serné, E. H. and Eringa, E. C. 2020. Contrast-enhanced ultrasound for quantification of tissue perfusion in humans. *Microcirculation* 27: e12588.
15. Evans, L., Rhodes, A., Alhazzani, W., Antonelli, M., Coopersmith, C. M., French, C., Machado, F. R., Mcintyre, L., Ostermann, M., Prescott, H. C., Schorr, C., Simpson, S., Wiersinga, W. J., Alshamsi, F., Angus, D. C., Arabi, Y., Azevedo, L., Beale, R., Beilman, G., Belley-Cote, E., Burry, L., Cecconi, M., Centofanti, J., Coz Yataco, A., De Waele, J., Dellinger, R. P., Doi, K., Du, B., Estenssoro, E., Ferrer, R., Gomersall, C., Hodgson, C., Hylander Møller, M., Iwashyna, T., Jacob, S., Kleinpell, R., Klompas, M., Koh, Y., Kumar, A., Kwizera, A., Lobo, S., Masur, H., McGloughlin, S., Mehta, S., Mehta, Y., Mer, M., Nunnally, M., Oczkowski, S., Osborn, T., Papathanassoglou, E., Perner, A., Puskarich, M., Roberts, J., Schweickert, W., Seckel, M., Sevransky, J., Sprung, C. L., Welte, T., Zimmerman, J. and Levy, M. 2021. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock 2021. *Crit. Care Med.* 49: e1063–e1143.
16. Garcia, M. I. M., Romero, M. G., Cano, A. G., Aya, H. D., Rhodes, A., Grounds, R. M. and Cecconi, M. 2014. Dynamic arterial elastance as a predictor of arterial pressure response to fluid administration: A validation study. *Crit. Care* 18: 626.

17. Grubb, T., Sager, J., Gaynor, J. S., Montgomery, E., Parker, J. A., Shafford, H. and Tearney, C. 2020. 2020 AAHA Anesthesia and Monitoring Guidelines for Dogs and Cats. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 56: 59–82.
18. Gasser, B., Uscategui, R. A. R., Maronezi, M. C., Pavan, L., Simões, A. P. R., Martinato, F., Silva, P., Crivellenti, L. Z. and Feliciano, M. A. R. 2020. Clinical and ultrasound variables for early diagnosis of septic acute kidney injury in bitches with pyometra. *Sci. Rep.* 10: 8994.
19. Hall, J. E. 2013. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology, 13th Edition, Elsevier, PA, USA. 298-308.
20. Haskins, S., Pascoe, P. J., Ilkiw, J. E., Fudge, J., Hopper, K. and Aldrich, J. 2005. Reference cardiopulmonary values in normal dogs. *Comp. Med.* 55: 156–161.
21. Hattersley, R., Downing, F., Gibson, S., Demetriou, J., Elmenhorst, K., Kulendra, N., Mielke, B. and Woods, S. 2020. Impact of intra-operative hypotension on mortality rates and post-operative complications in dogs undergoing cholecystectomy. *J. Small Anim. Pract.* 61: 624–629.
22. Iizuka, T., Kamata, M., Yanagawa, M. and Nishimura, R. 2013. Incidence of intraoperative hypotension during isoflurane-fentanyl and propofol-fentanyl anaesthesia in dogs. *Vet. J.* 198: 289–291.
23. Imai, Y., Satoh, K. and Taira, N. 1978. Role of the peripheral vasculature in changes in venous return caused by isoproterenol, norepinephrine, and methoxamine in anesthetized dogs. *Circ. Res.* 43: 553-561.
24. Ince, C. 2015. Hemodynamic coherence and the rationale for monitoring the microcirculation. *Crit. Care* 19: Suppl 3: S8.
25. Jhanji, S., Lee, C., Watson, D., Hinds, C. and Pearse, R. M. 2009. Microvascular flow and tissue oxygenation after major abdominal surgery: Association with post-operative complications. *Intensive Care Med.* 35: 671-677.
26. Karzai, W., Reilly, J. M., Hoffman, W. D., Cunnion, R. E., Danner, R. L., Banks, S. M., Parrillo, J. E. and Natanson, C. 1995. Hemodynamic effects of dopamine, norepinephrine, and fluids in a dog model of sepsis. *Am. J. Physiol.* 268: 692–702.
27. Kojima, K., Ishizuka, T., Sasaki, N., Nakamura, K. and Takiguchi, M. 2021. Cardiovascular effects of dose escalating of norepinephrine in healthy dogs

anesthetized with isoflurane. *Vet. Anaesth. Analg.* 48: 654–662.

28. Lima, A., Van Rooij, T., Ergin, B., Sorelli, M., Ince, Y., Specht, P. A. C., Mik, E. G., Bocchi, L., Kooiman, K., De Jong, N. and Ince, C. 2018. Dynamic contrast-enhanced ultrasound identifies microcirculatory alterations in sepsis-induced acute kidney injury. *Crit. Care Med.* 46: 1284–1292.
29. Liu, H., Yu, L., Yang, L. and Green, M. S. 2017. Vasoplegic syndrome: An update on perioperative considerations. *J. Clin. Anesth.* 40: 63–71.
30. Matsuda, N. and Hattori, Y. 2007. Vascular biology in sepsis: pathophysiological and therapeutic significance of vascular dysfunction. *J. Smooth Muscle Res.* 43: 117–137.
31. Meng, L., Wang, Y., Zhang, L. and McDonagh, D. L. 2019. Heterogeneity and Variability in Pressure Autoregulation of Organ Blood Flow: Lessons Learned over 100+ Years. *Crit. Care Med.* 47: 436–448.
32. Merin, R. G., Bernard, J. M., Doursout, M. F., Cohen, M. and Chelly, J. E. 1991. Comparison of the effects of isoflurane and desflurane on cardiovascular dynamics and regional blood flow in the chronically instrumented dog. *Anesthesiology* 74: 568–574.
33. Monnet, X. and Teboul, J. L. 2017. Transpulmonary thermodilution: Advantages and limits. *Crit. Care* 21: 1–12.
34. Murrell, JC. 2015. Adrenergic Agents. In: Veterinary Anesthesia and Analgesia: The Fifth Edition of Lumb and Jones (5th edn). Tranquilli, WJ., Lamont, LA. and Grimm, KA. (eds). Wiley Blackwell, USA. pp. 183–195.
35. Mutoh, T., Nishimura, R., Kim, H. Y., Matsunaga, S. and Sasaki, N. 1997. Cardiopulmonary effects of sevoflurane, compared with halothane, enflurane, and isoflurane, in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 58: 885–890.
36. Nakamura, K., Sasaki, N., Murakami, M., Bandula Kumara, W. R., Ohta, H., Yamasaki, M., Takagi, S., Osaki, T. and Takiguchi, M. 2010. Contrast-enhanced ultrasonography for characterization of focal splenic lesions in dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 24: 1290–1297.
37. Nisa, K., Lim, S. Y., Shinohara, M., Osuga, T., Yokoyama, N., Tamura, M., Nagata, N., Sasaoka, K., Dermlim, A., Leela-Arporn, R., Morita, T., Sasaki, N., Morishita,

K., Nakamura, K., Ohta, H. and Takiguchi, M. 2019. Evaluation of duodenal perfusion by contrast-enhanced ultrasonography in dogs with chronic inflammatory enteropathy and intestinal lymphoma. *J. Vet. Intern. Med.* 33: 559–568.

38. Nishimura, A., Tabuchi, Y., Kikuchi, M., Masuda, R., Goto, K. and Iijima, T. 2016. The Amount of Fluid Given during Surgery That Leaks into the Interstitium Correlates with Infused Fluid Volume and Varies Widely between Patients. *Anesth. Analg.* 123: 925–932.
39. Ojiri, Y., Noguchi, K., Chibana, T. and Sakanashi, M. 1993. Effects of adrenergic stimulants on the splenic diameter, haemoglobin content and haematocrit in anaesthetized dogs: determination of the adrenoceptor subtype responsible for changes in the splenic diameter. *Acta Physiol. Scand.* 149: 31–39.
40. Ospina-Tascón, G. A., Umaña, M., Bermúdez, W. F., Bautista-Rincón, D. F., Valencia, J. D., Madriñán, H. J., Hernandez, G., Bruhn, A., Arango-Dávila, C. and De Backer, D. 2016. Can venous-to-arterial carbon dioxide differences reflect microcirculatory alterations in patients with septic shock? *Intensive Care Med.* 42: 211–221.
41. Peng, Z. Y., Critchley, L. A., Joynt, G. M., Gruber, P. C., Jenkins, C. R. and Ho, A. M.-H. 2008. Effects of norepinephrine during intra-abdominal hypertension on renal blood flow in bacteremic dogs. *Crit. Care Med.* 36: 834–841.
42. Pypendop, B. H. and Verstegen, J. P. 1998. Hemodynamic effects of medetomidine in the dog: a dose titration study. *Vet. Surg.* 27: 612–622.
43. Pypendop, B. H. and Verstegen, J. P. 2000. Effects of a medetomidine-midazolam-butorphanol combination on renal cortical, intestinal and muscle microvascular blood flow in isoflurane anaesthetized dogs: a laser Doppler study. *Vet. Anaesth. Analg.* 27: 36–44.
44. Read, D. J., Doleman, B., Heinink, T., Selby, N. M., Lund, J. N., Phillips, B. E. and Williams, J. P. 2021. Contrast-enhanced ultrasound assessed renal microvascular perfusion may predict postoperative renal complications following colorectal surgery. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 48: 971–977.
45. Restitutti, F., Laitinen, M. R., Raekallio, M. R., Vainionpää, M., O'Brien, R. T.,

Kuusela, E. and Vainio, O. M. 2013. Effect of MK-467 on organ blood flow parameters detected by contrast-enhanced ultrasound in dogs treated with dexmedetomidine. *Vet. Anaesth. Analg.* 40: e48-e56.

46. Rosati, M., Dyson, D. H., Sinclair, M. D. and Sears, W. C. 2007. Reponse of hypotensive dogs to dopamine hydrochloride and dobutamine hydrochloride during deep isoflurane anesthesia. *Am. J. Vet. Res.* 68: 483–494.
47. Rothman, K. J. 1990. No adjustments are needed for multiple comparisons. *Epidemiology* 1: 43–46.
48. Salmasi, V., Maheshwari, K., Yang, D., Mascha, E. J., Singh, A., Sessler, D. I. and Kurz, A. 2017. Relationship between intraoperative hypotension, defined by either reduction from baseline or absolute thresholds, and acute kidney and myocardial injury after noncardiac surgery: a retrospective cohort analysis. *Anesthesiology* 126: 47–65.
49. Scheeren, T. W. L. and Arndt, J. O. 2000. Different response of oxygen consumption and cardiac output to various endogenous and synthetic catecholamines in awake dogs. *Crit. Care Med.* 28: 3861–3868.
50. Senatore, F., Balakumar, P. and Jagadeesh, G. 2021. Dysregulation of the renin-angiotensin system in septic shock: Mechanistic insights and application of angiotensin II in clinical management. *Pharmacol. Res.* 174: 105916.
51. Sidhu, P. S., Cantisani, V., Dietrich, C. F., Gilja, O. H., Saftoiu, A., Bartels, E., Bertolotto, M., Calliada, F., Clevert, D.-A., Cosgrove, D., Deganello, A., D'Onofrio, M., Drudi, F. M., Freeman, S., Harvey, C., Jenssen, C., Jung, E.-M., Klauser, A. S., Lassau, N., Meloni, M. F., Leen, E., Nicolau, C., Nolsoe, C., Piscaglia, F., Prada, F., Prosch, H., Radzina, M., Savelli, L., Weskott, H.-P. and Wijkstra, H. 2018. The EFSUMB Guidelines and Recommendations for the Clinical Practice of Contrast-Enhanced Ultrasound (CEUS) in Non-Hepatic Applications: Update 2017 (Long Version). *Ultraschall Med.* 39: e2–e44.
52. Silverstein, D. C. and Santoro Beer, K. A. 2015. Controversies regarding choice of vasopressor therapy for management of septic shock in animals. *J. Vet. Emerg. Crit. Care* 25: 48–54.
53. Steffey, E. P. and Howland, D. 1977. Isoflurane potency in the dog and cat. *Am.*

J. Vet. Res. 38: 1833–1836.

54. Tang, M.-X., Mulvana, H., Gauthier, T., Lim, A. K. P., Cosgrove, D. O., Eckersley, R. J. and Stride, E. 2011. Quantitative contrast-enhanced ultrasound imaging: a review of sources of variability. *Interface Focus* 1: 520–539.
55. Watanabe, R., Matsumura, M., Chen, C.-J., Kaneda, Y., Ishihara, M. and Fujimaki, M. 2003. Gray-scale liver enhancement with Sonazoid (NC100100), a novel ultrasound contrast agent; detection of hepatic tumors in a rabbit model. *Biol. Pharm. Bull.* 26: 1272–1277.
56. Waddell, LS., and Brown, AJ. 2015. Hemodynamic Monitoring. In: Small Animal Critical Care Medicine (2nd edn). Silverstein DC, Hopper K (eds). Elsevier, USA. 957–961.
57. Walley, K. R., Lewis, T. H. and Wood, L. D. H. 1990. Acute respiratory acidosis decreases left ventricular contractility but increases cardiac output in dogs. *Circ. Res.* 67: 628–635.
58. Wei, K., Le, E., Bin, J. P., Coggins, M., Thorpe, J. and Kaul, S. 2001. Quantification of renal blood flow with contrast-enhanced ultrasound. *J. Am. Coll. Cardiol.* 37: 1135–1140.
59. Zhang, J., Simpson, P. C. and Jensen, B. C. 2021. Cardiac α1A-adrenergic receptors: emerging protective roles in cardiovascular diseases. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 320: H725–H733.