

ラットおよびウサギにおける3種混合麻酔薬の検討

今野和則¹, 堀内伸二², 磯江孝治², 松田浩典¹, 藤原広和², 古谷真美¹, 高島宏昌³

Evaluation of the combination of three anesthetics in rats and rabbits

Kazunori KONNO¹, Shinji HORIUCHI¹, Koji ISOE², Hironori MATSUDA¹,
Hirokazu FUJIWARA², Mami FURUYA¹, Hiromasa TAKASHIMA³

緒言

ケタミンとキシラジンの混合麻酔薬は、その安全性と麻酔効果の確実性から、動物実験における外科的手術等の麻酔薬として広く使用されてきた。しかし、平成18年3月23日に「麻薬、麻薬原料植物、向精神薬および麻薬向精神薬原料を指定する政令」の改正により、ケタミンは麻薬と定められ、平成19年1月1日より法令として施行された。よって、許可のないケタミンの所有は違法となり、違反した者は麻薬取締法違反で重罪となる(1年以上10年以下の懲役および300万円以下の罰金)。ケタミンを利用する場合は麻薬研究者や麻薬施用者の免許を取得しておく必要があることから、使用に困難を生じる状況も多くなってきている。

現在、実験動物の麻酔薬として、一般的に使用されているペントバルビタールナトリウムは、中枢神経系に迅速に作用し、外科麻酔が得られる麻酔深度では血圧の低下、呼吸抑制あるいは停止等の症状を引き起こす可能性が高く、実験操作中に死亡する事例が多く報告されている。また、吸入麻酔薬(セボフルラン、イソフルラン、ハロタン等)による麻酔は、長時間の全身麻酔を想定した場合において、安全かつ確実な方法であるが、専用の吸入麻酔装置を必要とし、複数の動物に対して同時に麻酔操作を行う場合には、操作スペースやコスト面で注射麻酔法よりも劣る。これらのことから、これに代わる簡便で麻酔効果の高い注射麻酔

薬が強く求められている。

今回われわれは、野生動物捕獲等に使用¹⁻³⁾され、マウス、ラットおよびイヌで報告⁴⁻⁶⁾のある3種類(アドレナリン α_2 受容体作動薬、ベンゾジアゼピン系鎮静剤およびオピオイド κ 受容体作動薬)の混合麻酔薬について、ラットおよびウサギにおける使用を想定した投与量の設定、麻酔効果、拮抗薬による覚醒効果および麻酔薬による生体への影響について検討を行った。

材料および方法

麻酔薬として、アドレナリン α_2 受容体作動薬である塩酸メデトミジン(ドミツール、日本全薬工業、以下メデトミジン)、ベンゾジアゼピン系鎮静剤であるミダゾラム(ドルミカム注射液10 mg, アステラス製薬、以下ミダゾラム)およびオピオイド κ 受容体作動薬である酒石酸ブトルファノール(ベトルファール、Meiji Seika ファルマ、以下ブトルファノール)を用いた。麻酔薬の混合比は、Pangらの報告⁵⁾および各麻酔薬の添付文書に記載された推奨投与量を参考にして実施した予備実験の結果から設定した。すなわち、ラットでは体重1 kgに対してメデトミジン0.4 mg, ミダゾラム2.0 mg, ブトルファノール5.0 mgの用量で混合し、ウサギでは体重1 kgに対してメデトミジン0.5 mg, ミダゾラム2.0 mg, ブトルファノール0.5 mgの用量で混合した。また、拮抗薬として、アドレナリン α_2 受容体作動薬に拮抗作用のある塩酸アチパメゾール(アンチセダン、日本全薬工業、以下アチパメゾール)およびベンゾジアゼピン系鎮静剤に拮抗作用のあるフルマゼニ

1 毒性部毒性学研究室

2 試験研究管理部動物飼育管理室

3 試験研究管理部試験情報管理室

表1 群構成, 投与経路, 投与量および各種薬剤の混合比率

動物種	群	投与経路	3種麻酔薬の混合比率 (mg/kg)			麻酔薬投与量 (mL/kg)	2種拮抗薬の混合比率 (mg/kg)		拮抗薬投与量 (mL/kg)	動物数
			Me	Mi	Bu		At	Fu		
ラット	麻酔薬投与群	腹腔内	0.4	2.0	5.0	2.0	-	-	-	5
	拮抗薬投与群	腹腔内	0.4	2.0	5.0	2.0	1.2	0.01	0.36	5
ウサギ	0.5 mL/kg 麻酔薬投与群	筋肉内	0.5	2.0	0.5	0.5	1.5	0.01	0.40	5
	0.8 mL/kg 投麻酔薬と群	筋肉内	0.5	2.0	0.5	0.8	1.5	0.01	0.40	5

Me: メデトミジン, Mi: ミダゾラム, Bu: ブトルファノール, At: アチパメゾール, Fu: フルマゼニル

表2 角膜・眼瞼反射および痛覚反射に対するスコア表

角膜・眼瞼反射(角膜および眼瞼に触れ、反射を観察)

観察項目	スコア
角膜および眼瞼ともに反射は認められない	0
眼瞼反射が認められる	1
角膜反射が認められる	2
角膜および眼瞼ともに反射が認められる	3

痛覚刺激に対する反射(四肢趾間を注射針で穿刺し、反射を観察)

観察項目	スコア
四肢のいずれにも反射は認められない	0
四肢のうち、一肢に反射が認められる	1
四肢のうち、二肢に反射が認められる	2
四肢のうち、三肢に反射が認められる	3
四肢のいずれにも反射が認められる	4

ル(フルマゼニル静注液0.5 mg「サワイ」, 沢井製薬, 以下フルマゼニル)を用いた。拮抗薬は, ラットでは体重1 kgに対してアチパメゾール1.2 mg, フルマゼニル0.01 mgの用量で混合し, ウサギでは体重1 kgに対してアチパメゾール1.5 mg, フルマゼニル0.01 mgの用量で混合した(表1)。

1. ラット

動物は, Iar:Wistar 系雄ラットを使用した。温度21~25℃, 湿度40~75%, 換気設定約15回/時間, 明暗サイクル12時間(点灯時間7~19時)に設定された飼育室内で, 金属製金網床ケージに個別に収容し, 固型飼料(CE-2, 日本クレア)および水道水(秦野市水道局給水, 以下水道水)を自由摂取させて飼育した。

投与当日の体重を基に3種混合麻酔薬を2.0 mL/kgの容量で腹腔内投与し, 投与前(直腸温のみ計測), 投与後10, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 180および240分に直腸温(SK-L200T II,

佐藤計量器製作所), 心拍数(胸腔を触診してカウント), 呼吸数(目視にてカウント), 角膜・眼瞼の刺激に対する反射(角膜および眼瞼に触れ, 表2に示したスコアを用いて, 反射の有無を評点化), 痛覚刺激に対する反射(注射針を用いて四肢趾間を軽く穿刺し, 表2に示したスコアを用いて, 脊髄反射のひとつである屈曲・引っ込め反射の有無を評点化)について計測した。また, 上記と同条件で3種混合麻酔薬を別の動物に投与し, 投与後60分まで同様の検査を行った後, 拮抗薬を0.36 mL/kgの容量で腹腔内投与し, 10分後に覚醒状態を確認した。

2. ウサギ

動物は, 日本白色種(Kbs:JW)雄ウサギを使用した。温度21~25℃, 湿度40~75%, 換気設定約15回/時間, 明暗サイクル12時間(点灯時間7~19時)に設定された飼育室内で, 金属製金網床ケージに個別に収容し, 固型飼料(RC4, オリエ

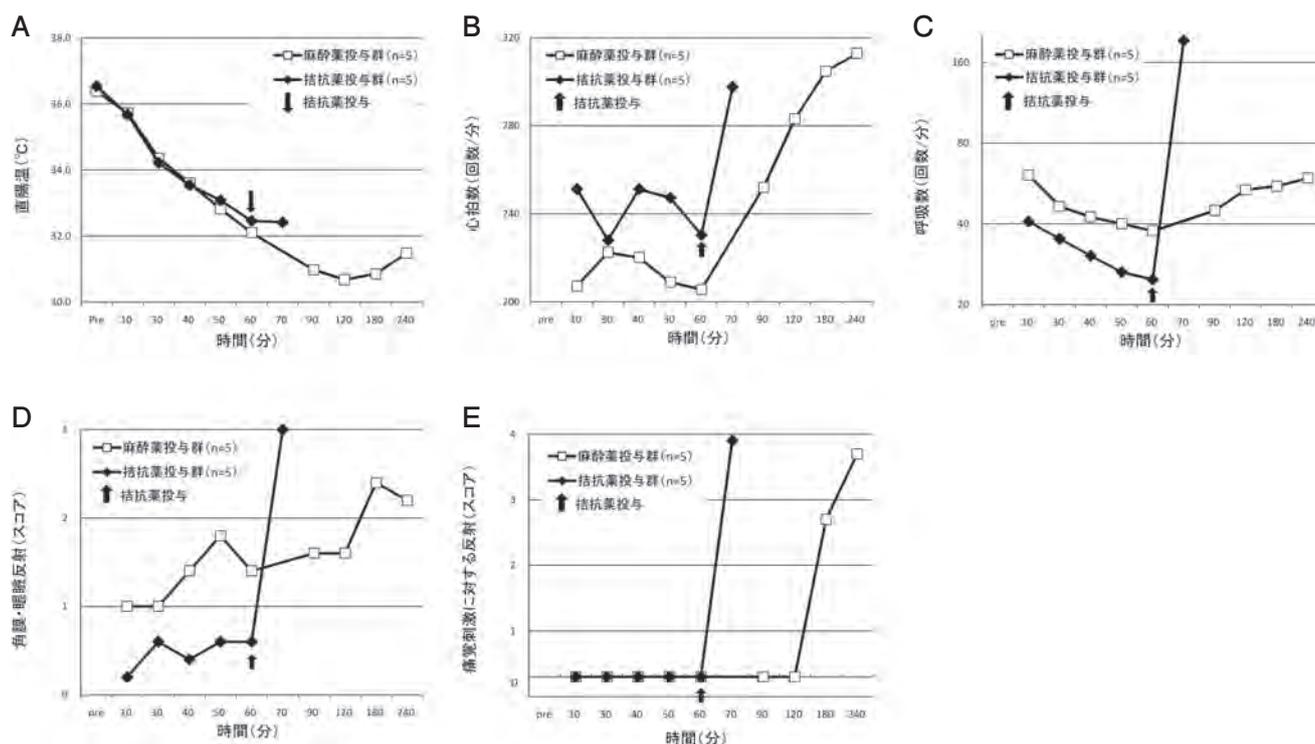


図1 麻酔中におけるラットの直腸温(A)、心拍数(B)、呼吸数(C)、角膜・眼瞼反射(D)および痛覚刺激に対する反射(E)の経時的変化

ンタル酵母)を制限給餌(約130 g/日)、水道水を自由摂取させて飼育した。

投与当日の体重を基に3種混合麻酔薬を0.5あるいは0.8 mL/kgの容量でそれぞれ5匹に筋肉内投与し、投与前(直腸温のみ計測)、投与後10, 30, 40, 50, 60, 90, 100および120分に直腸温(SK-L200T II, 佐藤計量器製作所)、心拍数および心電図(1CH 全自動解析心電計, フクダエム・イー工業)、呼吸数(目視にてカウント)、角膜・眼瞼の刺激に対する反射(角膜および眼瞼に触れ、表2に示したスコアを用いて、反射の有無を評点化)、痛覚刺激に対する反射(注射針を用いて四肢趾間を軽く穿刺し、表2に示したスコアを用いて、反射の有無を評点化)について計測した。計測終了後、全例に拮抗薬を0.40 mL/kgの容量で筋肉内投与し、覚醒状態を確認した。また、麻酔薬の投与前、投与後60, 120, 180分および24時間に耳介静脈より採取した血液を用いて、血液生化学的検査を実施した。血液生化学的検査の結果は、投与前と各投与後時間の値を比較し、有意差検定を実施した。

なお、全ての実験操作は、「財団法人食品薬品

安全センター秦野研究所動物実験に関する指針」に基づき、承認(動物実験承認番号:1110080A)を得て実施した。

結果

1. ラット

直腸温(図1A)は、麻酔薬の投与後120分まで継続して低下(最大5.7℃)したが、投与後180分からは上昇に転じた。また、拮抗薬の投与後10分に直腸温の低下は抑制された。心拍数(図1B)は麻酔薬の投与後10分から減少し、投与後60分からは増加傾向を示した。また、拮抗薬の投与後10分に心拍数の増加が認められた。呼吸数(図1C)は麻酔薬の投与後60分まで継続して減少したが、投与後90分から増加傾向を示した。また、拮抗薬の投与後10分に呼吸数が著しく増加した。反射は、角膜・眼瞼反射(図1D)が麻酔薬の投与後10分から120分の間、スコア2以下であったが、投与後180分以降は、スコア2を上回った。痛覚刺激に対する反射(図1E)は、麻酔薬の投与後120分まで反射がみられなかったが、投与後180分以降は反射が認められ、スコア2を上回っ

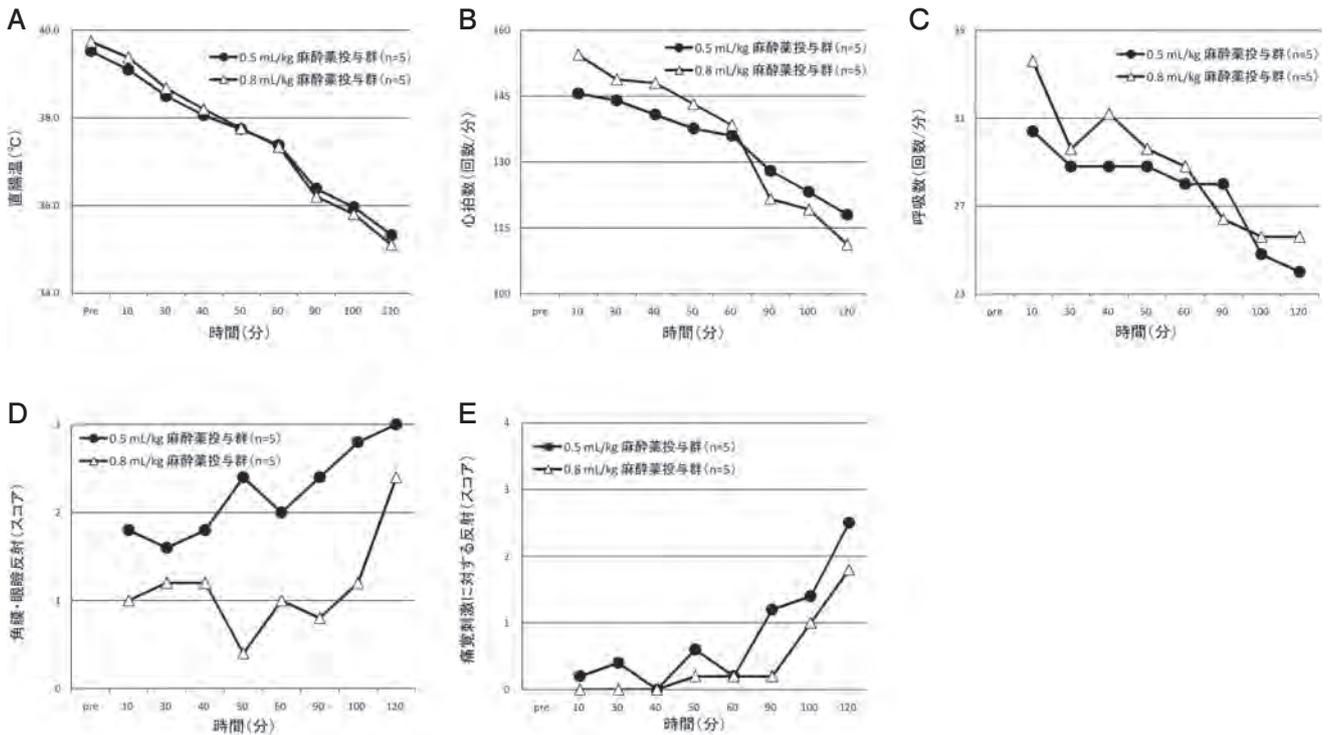


図2 麻酔中におけるウサギの直腸温(A), 心拍数(B), 呼吸数(C), 角膜・眼瞼反射(D) および痛覚刺激に対する反射(E)の経時的変化

た。拮抗薬投与後は、全例において投与後10分に角膜・眼瞼および痛覚刺激に対する反射の回復が認められた。

2. ウサギ

直腸温(図2A)は、0.5および0.8 mL/kg麻酔薬投与群のいずれの動物においても、計測終了時点である投与後120分まで直腸温が継続して低下し、回復は認められなかった。なお、投与後120分の直腸温は、投与前に比べると0.5 mL/kg麻酔薬投与群で4.2℃、0.8 mL/kg麻酔薬投与群で4.6℃低下した。心拍数(図2B)は、0.5および0.8 mL/kg麻酔薬投与群のいずれの動物においても、投与後120分まで心拍数が継続して減少した。呼吸数(図2C)は、両群とも投与後120分まで呼吸数が継続して低下し、回復は認められなかった。反射は、0.5 mL/kg麻酔薬投与群において、角膜・眼瞼反射(図2D)が投与後50分にスコア2を上回ったものの、それ以外は投与から60分の間、スコア2以下であった。また、投与後90分以降は、スコア2を上回った。痛覚刺激に対する反射(図2E)は、投与後10分から60分までの間、スコア1以下であったが、投与後90分

以降は、スコア1を上回った。0.8 mL/kg麻酔薬投与群において、角膜・眼瞼反射が投与後10分から100分の間、スコア2以下であったが、投与後120分では、スコア2を上回った。痛覚刺激に対する反射は、投与後10分から90分までの間、スコア1以下であったが、投与後100分以降は、スコア1を上回った。なお、投与後120分に拮抗薬を投与した結果、いずれの群の動物においても、速やかな覚醒が確認された。心電図検査(表3)では、0.5あるいは0.8 mL/kg麻酔薬投与群において、洞不整脈、左房負荷、右房負荷、第1度房室ブロック、上室性調律およびQT延長が散発的に認められた。血液生化学的検査(表4, 5)では、0.5および0.8 mL/kg麻酔薬投与群において、投与後60分から24時間の間に総タンパク濃度、アルブミン濃度およびカリウムイオン濃度が投与前よりも有意に低下し、乳酸脱水素酵素活性、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性、グルコース濃度、無機リン濃度、ナトリウム濃度およびトリグリセライド濃度が投与前よりも有意に上昇した。

表3 ウサギにおける心電図検査結果

群	動物番号	時間(分)							
		10	30	40	50	60	90	100	120
0.5 mL/kg 麻酔薬 投与群	1	洞不整脈	左房負荷	第1度房室ブロック	左房負荷	-	-	-	洞不整脈
	2	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	第1度房室ブロック	第1度房室ブロック 右房負荷	第1度房室ブロック	-	第1度房室ブロック	-	第1度房室ブロック
	4	-	第1度房室ブロック	-	第1度房室ブロック 左房負荷	-	上室性調律	上室性調律	第1度房室ブロック
	5	左房負荷	-	-	-	-	-	QT延長	QT延長
0.8 mL/kg 麻酔薬 投与群	6	-	-	洞不整脈	洞不整脈 左房負荷	-	-	洞不整脈 QT延長	QT延長
	7	-	-	-	左房負荷	-	第1度房室ブロック	-	-
	8	-	-	-	-	-	-	-	QT延長
	9	-	左房負荷	洞不整脈	-	第1度房室ブロック	第1度房室ブロック 左房負荷	-	第1度房室ブロック 左房負荷
	10	洞不整脈	-	-	-	-	-	-	-

- : 異常所見なし

表4 ウサギにおける血液生化学的検査結果(0.5 mL/kg 麻酔薬投与群)

群	0.5 mL/kg										
	投与後 時間	総タンパク質 濃度 (g/dL)	アルブミン 濃度 (g/dL)	A/G比	アルカリフォス ファターゼ活性 (U/L)	アスパラギン酸ア ミノトランスフェ ラーゼ活性 (U/L)	アラニン アミノトランス フェラーゼ活性 (U/L)	γ-グルタミル トランス ペプチターゼ活性 (U/L)	乳酸脱水素酵 素活性 (U/L)	尿素窒素 濃度 (mg/dL)	クレアチニン濃度 (mg/dL)
投与前		6.8 ±0.3	5.2 ±0.2	3.08 ±0.17	116 ±17	18 ±5	22 ±4	4 ±1	27 ±5	21 ±2	1.0 ±0.1
60分後		6.2** ±0.1	4.7** ±0.1	3.09 ±0.09	106 ±13	16 ±4	17 ±5	4 ±1	152** ±25	22 ±3	1.0 ±0.2
120分後		6.3* ±0.2	4.8* ±0.2	3.13 ±0.25	103 ±12	17 ±5	17 ±5	4 ±1	265** ±37	23 ±2	1.0 ±0.2
180分後		7.0 ±0.4	5.2 ±0.3	2.95 ±0.15	120 ±16	26* ±6	23 ±6	5 ±1	683** ±155	23 ±3	1.0 ±0.2
24時間後		6.7 ±0.3	4.9 ±0.2	2.89 ±0.21	94* ±10	28** ±4	26 ±3	4 ±1	803** ±172	20 ±2	1.0 ±0.2
投与後 時間	グルコース 濃度 (mg/dL)	カルシウム 濃度 (mg/dL)	トリグリセ ライド濃度 (mg/dL)	総コレステ ロール濃度 (mg/dL)	総ビリルビン 濃度 (mg/dL)	無機リン 濃度 (mg/dL)	リン脂質 濃度 (mg/dL)	ナトリウムイオン 濃度 (mEq/L)	カリウムイオン 濃度 (mEq/L)	塩素イオン 濃度 (mEq/L)	
投与前	115 ±7	12.1 ±0.8	27 ±7	14 ±3	0.01 ±0.00	3.2 ±0.1	47 ±8	146.6 ±1.6	4.43 ±0.66	111.1 ±2.6	
60分後	274** ±48	11.1 ±0.7	24 ±6	13 ±4	0.01 ±0.00	4.2** ±0.2	42 ±7	148.5 ±0.7	3.67* ±0.30	106.6* ±2.7	
120分後	273* ±60	11.2 ±0.9	26 ±7	15 ±3	0.01 ±0.00	4.2** ±0.3	44 ±7	148.1 ±2.0	3.67 ±0.20	105.6 ±3.5	
180分後	179* ±32	11.7 ±0.6	22 ±7	16 ±5	0.01 ±0.00	3.3 ±0.6	43 ±6	152.0** ±0.8	3.66* ±0.33	109.2 ±2.0	
24時間後	120 ±12	11.7 ±0.6	54* ±17	19 ±5	0.01 ±0.00	2.9 ±0.5	53 ±6	147.1 ±1.9	4.29 ±0.35	110.9 ±2.5	

値は平均±標準偏差で表示(n=5)

* : 麻酔前と比較して有意な変化(p<0.05)

** : 麻酔前と比較して有意な変化(p<0.01)

表5 ウサギにおける血液生化学的検査結果(0.8 mL/kg 麻酔薬投与群)

群	0.8 mL/kg									
	投与後 時間	総タンパク質 濃度 (g/dL)	アルブミン 濃度 (g/dL)	A/G比	アルカリフォス ファターゼ活性 (U/L)	アスパラギン酸ア ミノトランスフェ ラーゼ活性 (U/L)	アラニン アミノトランス フェラーゼ活性 (U/L)	γ-グルタミル トランス ペプチターゼ活性 (U/L)	乳酸脱水素酵 素活性 (U/L)	尿素窒素 濃度 (mg/dL)
投与前	7.9 ± 0.4	5.9 ± 0.1	2.89 ± 0.36	128 ± 39	19 ± 4	35 ± 10	4 ± 1	24 ± 4	18 ± 2	1.0 ± 0.2
60分後	7.3* ± 0.4	5.5** ± 0.1	2.96 ± 0.47	119 ± 36	18 ± 4	31 ± 9	4 ± 1	240** ± 72	20 ± 3	1.0 ± 0.1
120分後	7.4* ± 0.3	5.5** ± 0.2	2.86 ± 0.26	121 ± 34	19 ± 3	30 ± 11	4 ± 1	462** ± 120	21 ± 3	1.0 ± 0.1
180分後	8.4 ± 0.3	6.2* ± 0.2	2.83 ± 0.34	135 ± 40	26* ± 3	38 ± 13	5 ± 1	954** ± 195	21 ± 2	1.0 ± 0.1
24時間後	7.4 ± 0.5	5.3** ± 0.2	2.69 ± 0.38	98 ± 24	27 ± 8	38 ± 13	4 ± 1	1120** ± 216	20 ± 3	0.9 ± 0.1
投与後 時間	グルコース 濃度 (mg/dL)	カルシウム 濃度 (mg/dL)	トリグリセ ライド濃度 (mg/dL)	総コレステ ロール濃度 (mg/dL)	総ビリルビン 濃度 (mg/dL)	無機リン 濃度 (mg/dL)	リン脂質 濃度 (mg/dL)	ナトリウムイオン 濃度 (mEq/L)	カリウムイオン 濃度 (mEq/L)	塩素イオン 濃度 (mEq/L)
投与前	121 ± 7	13.6 ± 0.5	26 ± 7	13 ± 2	0.01 ± 0.00	3.1 ± 0.4	47 ± 4	147.1 ± 1.2	4.89 ± 0.29	111.0 ± 4.4
60分後	285** ± 32	12.8* ± 0.4	27 ± 7	14 ± 4	0.01 ± 0.00	4.3** ± 0.2	41* ± 4	148.3 ± 1.3	4.15** ± 0.18	107.1 ± 1.3
120分後	347** ± 45	12.9 ± 0.6	26 ± 6	15 ± 6	0.01 ± 0.01	4.5** ± 0.3	41 ± 5	146.0 ± 1.2	3.99** ± 0.45	106.0 ± 2.2
180分後	247** ± 50	13.2 ± 0.5	20 ± 5	14 ± 4	0.01 ± 0.01	3.8* ± 0.3	42 ± 5	150.8** ± 1.0	3.50** ± 0.40	106.1 ± 2.4
24時間後	119 ± 3	12.8* ± 0.4	71* ± 29	18* ± 2	0.01 ± 0.00	2.6 ± 0.3	56** ± 4	147.9 ± 1.2	4.51 ± 0.32	110.7 ± 1.3

値は平均±標準偏差で表示(n=5)

*: 麻酔前と比較して有意な変化(p<0.05)

**: 麻酔前と比較して有意な変化(p<0.01)

考察

今回、3種類の混合麻酔薬をラットおよびウサギに投与したことにより、いずれの動物においても死亡例はみられず、使用した個々の薬剤の副作用として報告⁷⁾のある嘔吐、流涎、痙攣といった症状も認められなかった。直腸温については、ラットおよびウサギにおいて麻酔薬投与後、時間経過とともに低下する傾向であったことから、麻酔薬投与後は何らかの保温措置が必要であると考えられた。心拍数および呼吸数については、ラットでは投与後60分、ウサギでは投与後120分まで減少する傾向であったが、本実験の条件下では、チアノーゼあるいは呼吸停止といった重篤な症状は認められなかったことから、麻酔中は呼吸補助等の措置は必要ないものと考えられた。ただし、数例の動物において、舌根沈下が認められたことか

ら、麻酔中は気道確保のため、動物の姿勢(体勢)には十分に配慮する必要がある。反射については、角膜・眼瞼反射のスコアが1以下、痛覚刺激に対する反射のスコアが2以下の場合、十分な深度の麻酔状態を維持していると考えられることから、ラットでは投与後120分間、ウサギにおいては0.5 mL/kg 麻酔薬投与群で投与後60分間、0.8 mL/kg 麻酔薬投与群で投与後90分間は深麻酔の状態が持続することが明らかになった。ウサギにおいてのみ実施した心電図については、ミダゾラムあるいは塩酸メデトミジンの添付文書に副作用として記載のある不整脈や房室ブロックがみられたほか、QT延長および心房負荷等の刺激伝達系の乱れも認められた。同じくウサギにおいてのみ実施した血液生化学的検査では、両群に認められた変化として、麻酔後60分から180分の間に総

タンパク質濃度, アルブミン濃度およびカリウムイオン濃度の低下がみられ, グルコース濃度, 無機リン濃度およびナトリウムイオン濃度の上昇が認められたが, いずれも麻酔後24時間においては, 麻酔前とほぼ同程度に回復した. そのほか, ミダゾラムの添付文書に副作用として記載のある乳酸脱水素酵素活性およびアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性の上昇が麻酔後60分から180分の間にみられ, いずれも麻酔後24時間においても回復は認められなかった. また, 麻酔後24時間にトリグリセライド濃度の上昇が認められた. なお, 本実験は麻酔後24時間までの結果であることから, これらの血液生化学的検査値の変動について, その後の経過(回復)を調べる必要があると考えている.

拮抗薬については, ラットおよびウサギとも投与後, 速やかな麻酔状態からの回復が確認されたが, 麻酔後の経過時間によって麻酔深度が異なり, さらに手術操作による侵襲の差異により至適な投与量が異なる可能性が予想される. よって, まず今回の検討で用いた投与量の1/2量を投与し, 状況に応じて追加投与を実施するのが望ましいと考えられた.

以上のことから, アドレナリン α_2 受容体作動薬, ベンゾジアゼピン系鎮静剤およびオピオイド κ 受容体作動薬を組み合わせた3種混合麻酔薬は実験動物における麻酔薬として有用であると考えられる.

文献

- 1) Wenger S, Buss P, Joubert J, et al.: Evaluation of butorphanol, medetomidine and midazolam as a reversible narcotic combination in free-ranging African lions (*Panthera leo*). *Vet Anaesth Analg*. 2010; **37**: 491-500
- 2) Kalema-Zikusoka G, Horne WA, Levine J, et al.: Comparison of the cardiorespiratory effects of medetomidine-butorphanol-ketamine and medetomidine-butorphanol-midazolam in patas monkeys (*Erythrocebus patas*). *J Zoo Wildl Med*. 2003; **34**: 47-52
- 3) Spelman LH: Reversible anesthesia of captive California sea lions (*Zalophus californianus*) with medetomidine, midazolam, butorphanol, and isoflurane. *J Zoo Wildl Med*. 2004; **35**: 65-69
- 4) Kawai S, Takagi Y, Kurosawa T, et al.: Effect of three types of mixed anesthetic agents alternate to ketamine in mice. *Exp Anim*. 2011; **60**: 481-487
- 5) Huajin Pang, 河合澄子, 黒澤務ら: ラットの三種混合短時間注射麻酔 At: 第57回日本実験動物学会総会2010年5月; 京都
- 6) Hayashi K, Nishimura R, Yamaki A, et al.: Comparison of sedative effects induced by medetomidine, medetomidine-midazolam and medetomidine-butorphanol in dogs. *J Vet Med Sci*. 1994; **56**: 951-956
- 7) 佐々木伸雄, 多川政弘, 西村亮平ら: 「獣医臨床麻酔学」東京:学窓社, 2006