

# 眼科学の実験用のカニクイサル身体保定装置(Monkey chair)の試作 およびそれによる覚醒下カニクイサルの眼圧日内変動の検討

石井 清<sup>1)</sup>, 新家 眞<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>大宮赤十字病院眼科, <sup>2)</sup>東京大学医学部附属病院分院眼科

## 要 約

眼科光学機械などの使用が可能な眼科学の実験用のカニクイサル用身体保定装置(以下, Monkey chair)を試作し, それを使用してカニクイサルの眼圧の日内変動および再現性を検討した. 対象はカニクイサル(雄3匹, 雌5匹). 年齢, 体重, 座高, 首周囲長, 胴周囲長, および尾周囲長は, それぞれ平均5.8歳, 4.4kg, 350mm, 185mm, 288mm, 98.9mmであった. 試作 Monkey chair は, 洗浄, 滅菌が可能な10mmアクリル板, ステンレス合金を使用し, 覚醒下における実験中にサルから実験者を守る防護壁と, 自発的な水分, 餌の摂取が可能な装置を取り付け, また, 種々の眼科光学機械による測定が容易に行えるように設計した. 眼圧測定は午前10時から午後10時まで試作した. Monkey chair に長時間連続保定したまま,

1~2時間毎にすべて覚醒下で測定を行った. 長時間の覚醒下における Monkey chair 保定が眼圧に及ぼす影響を検討するため, 他日に午後6時以降から Monkey chair に保定を行い, 眼圧測定を開始し, その眼圧と長時間覚醒下眼圧の同時刻の眼圧を比較した. 覚醒下における眼圧に日内変動が観察され( $p < 1 \times 10^{-14}$ : 一元配置分散分析), 他日の同時刻における眼圧測定結果は4~8%以下の違いで一致していた. (日眼会誌 100:507-512, 1996)

キーワード: サル身体保定装置, 眼圧, 覚醒下, 日内変動, 再現性

## A Monkey Chair Specially Designed for Ophthalmic Examinations and Intraocular Pressure Measurement in the Conscious Cynomolgus Monkey

Kiyoshi Ishii<sup>1)</sup> and Makoto Araie<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Eye Clinic, Omiya Red Cross Hospital

<sup>2)</sup>Division of Ophthalmology, University of Tokyo Branch Hospital

## Abstract

We constructed a monkey chair specially designed for ophthalmic examinations such as biomicroscopic examination, applanation tonometry etc. It was made of stainless steel and acrylic plastic, equipped with a protection plate for the experimenter, and adjustable to the size of the monkey. Using this chair, intraocular pressure (IOP) measurements of a fully conscious cynomolgus monkey were carried out at intervals of one or two hours from 10:00 AM to 10:00 PM. The IOP, at 6:00, 8:00 or 10:00 PM was compared with the IOP measured at the same time

of the day after one or two weeks. The IOP while fully conscious showed diurnal variation ( $p < 0.001$ , ANOVA). The IOP measured at the same time of the day at one or two week intervals showed reasonable reproducibility. (J Jpn Ophthalmol Soc 100:507-512, 1996)

Key words: Monkey chair, Intraocular pressure, Conscious cynomolgus monkey, Diurnal variation, Reasonable reproducibility

別刷請求先: 338 埼玉県与野市上落合903 大宮赤十字病院眼科 石井 清  
(平成7年10月11日受付, 平成8年3月6日改訂受理)

Reprint requests to: Kiyoshi Ishii, M.D. Eye Clinic, Omiya Red Cross Hospital, 903 Kamiochiai, Yono-shi, Saitama-ken 338, Japan

(Received October 11, 1995 and accepted in revised form March 6, 1996)

## I 緒 言

眼科領域の動物実験においては、様々な種類の動物が使用され、大半の動物は実験中、麻酔薬を投与され安静状態に置かれるか、種別に応じた身体保定装置に保定される<sup>1)2)</sup>。麻酔による身体保定では、非覚醒下の実験のみ可能であるが、身体保定装置による保定下では、覚醒下、非覚醒下両者で実験が可能である。薬物試験などは実験動物の生理的状況の如何が実験結果に反映することが考えられ<sup>3)~10)</sup>、覚醒下における観察が望ましい。しかし、既存の身体保定装置は、それぞれの動物の保定のみを目的としており、眼科学的検査に対して必ずしも適しているとはいえない。特に、霊長類で長時間、長期にわたり実験を行う場合、身体保定に完全を期すと個体に対するストレス、生理的影響が大きく、また、逆に手足を自由にするなど実験遂行が困難となる。今回、我々はサル実験用にすでに他科で汎用されている Monkey chair を参考<sup>11)</sup>に、細隙灯検査、眼圧測定、眼底検査などの眼科学的検査に適し、なおかつ長時間の保定に耐え、サルおよび実験者自身に対しても安全なカニクイサル用身体保定装置を試作した。さらに、本機を用いて覚醒下におけるカニクイサルの眼圧の日内変動および、その眼圧測定の再現性について検討したので報告する。

## II 対象および方法

### 1. 対 象

体重 3.0~6.5 kg の成熟カニクイサル 8 匹(年齢 5.8±0.4, 雄 3 匹, 雌 5 匹)を用いた。飼育室、実験室環境は午前 7 時から午後 7 時の 12 時間照明(40~100 lux)、室温 25 度、湿度 60% とした。

### 2. 実験方法

実験 1 : 身体測定および Monkey chair の作製

塩酸ケタミン(ケタラル®) 10 mg/kg の筋肉内注射による全身麻酔後、座高、首、胴、および尾の最大長または周囲長を測定し、さらに表 1 のごとく的设计基準を加味し、設計図を作成した。

実験 2 : 眼圧測定、長時間測定

対象としたカニクイサル 8 匹 16 眼を用いた。午前 9 時に無麻酔もしくは塩酸ケタミン(ケタラル®) 1~2 mg/kg の軽度鎮静を必要に応じて行い捕獲し<sup>1)</sup>、作製した Monkey chair に保定し、覚醒の後測定を開始した。眼

表 1 設計基準

今回の設計基準
1. 体格の個体差による保定調節が可能
2. 細隙灯顕微鏡などの眼科検査機械の使用が可能
3. 実験者に対する防護壁の取り付け
4. 付属の餌、給水装置
5. 洗浄、滅菌可能な材質選択

圧測定は午前 10 時から午後 2 時まで 1 時間毎、午後 2 時から午後 10 時まで 2 時間毎に行った。また、測定時に 0.4% 塩酸オキシプロカイン(ペノキシール®)による点眼麻酔を行い、眼圧測定には Alcon Applanation Pneumatograph®(Alcon, Firt Worth, TX, UAS)を使用した。

実験 3 : 眼圧測定 2, 再現性の検討

実験 2 の長時間の眼圧測定を行っているうちに、夜になると眼圧が下がる傾向がみられた。果たして、これが長時間の固定によるものか、個体特有の日内変動かどうかをみるために、夜のみ短時間眼圧を測定した場合と、長時間測定を行った場合との眼圧の比較を行うことにより眼圧の日内変動の再現性を検討した。実験 2 の 1 週間後、実験 2 と同様に必要に応じた塩酸ケタミン(ケタラル®)による鎮静を午後 4 時に行い、Monkey chair に保定し、午後 6, 8, 10 時に眼圧を測定(T 2)、日内変動測定時の眼圧(T 1)と比較した。さらに 1 週間後、午後 6 時に前述と同じ条件で、午後 6 時に鎮静を行い、保定後、午後 8, 11 時に眼圧を測定した(T 3)。

$$\frac{|T1-T2|}{(T1+T2)/2} \times 100(\%)$$

$$\frac{|T1-T3|}{(T1+T3)/2} \times 100(\%)$$

をそれぞれサル眼における同時刻測定値の再現性の指標として用いた。

## III 結 果

実験 1 : 身体計測および Monkey chair の作製

座高、首、胴、および尾の最大長または周囲長は、それぞれ平均 360 mm, 185 mm, 288 mm, 98.0 mm であった(表 2)。これを基に図面を作成した(図 1)。材質は洗浄、滅菌が可能なステンレス鋼、アクリル板を使用した。表 1 の体格の個体差による調節のため、Monkey chair の保定の高さ、保定の中心となる首、腹部の保定調節が可能になる工夫を加えた(図 2, 3)。さらに、実験中の実験者に対する防護壁(図 4)、および付属の餌、給水装置を取り付けた(図 5)。さらに、調節装置のネジを従来のものそのまま使用を続けると、長時間の覚醒下保定中にサルがはずすことがしばしば観察されたが、ネジがはずされることなく、安全に覚醒下での保定持続を行うため、ネジも埋め込

表 2 サル身体計測結果

	(mm)
座高(最大長)	348±19.8
首(周囲長)	185±29.3
胴(周囲長)	288±16.9
尾(周囲長)	98.8±13.3

平均値±標準偏差(n=8)

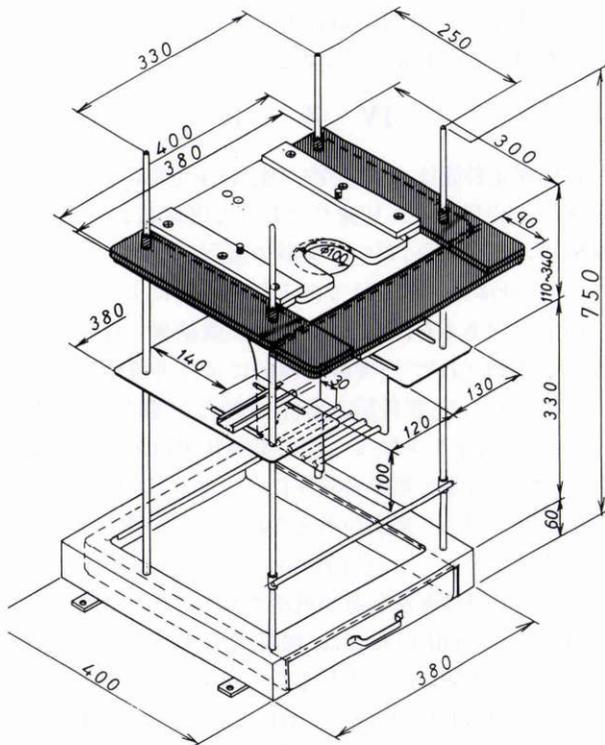


図 1 サル身体保定装置の設計図。  
斜線部位が脱着可能な防護壁。

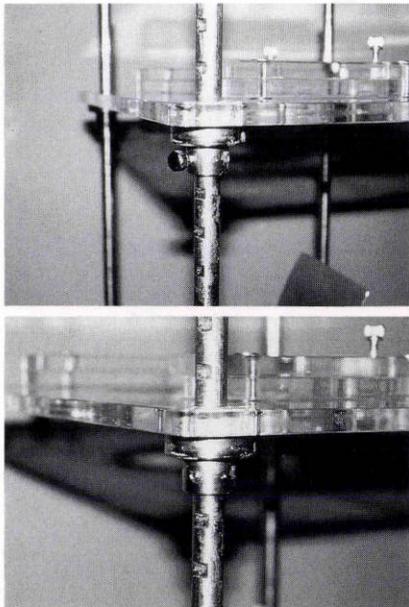


図 2 高さ調節装置。  
上：従来の調節ネジ，下：埋没型調節ネジ

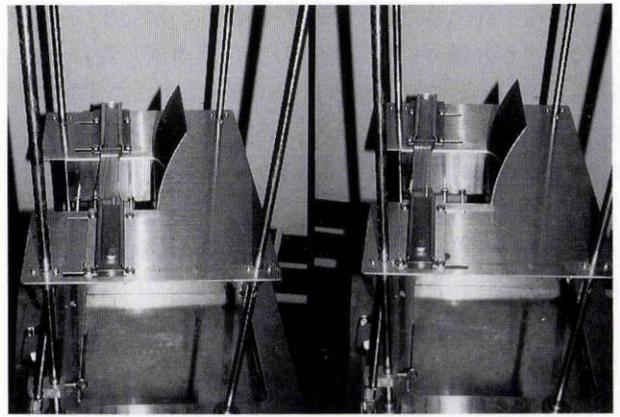


図 3 腹部保定調節装置。  
装置のスライドにより保定幅の調節可能。



図 4 防護壁使用写真。

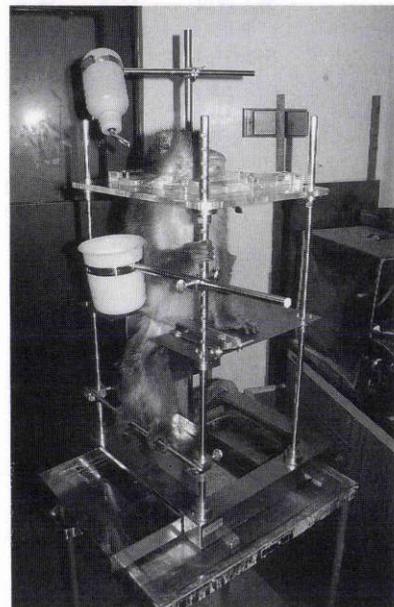


図 5 付属の餌，給水装置を取り付け例。  
防護壁は付いていない状態。

み式のものとした。また、本保定装置を用いて Canon 社製オートレフラクトメーター RK-1 で屈折力の測定を、参天社製眼軸長測定装置 SSZ 400 を用いて眼軸長の測定を行った。測定は 0.5% トロピカミド(ミドリン M®) による散瞳を行った後、塩酸ケタミン(ケタラール®) 5 mg/kg の筋肉内注射による全身麻酔下で行った。測定は容易で、表 3 に示す眼軸長、屈折力、および角膜屈折力が

得られた。

実験 2：眼圧測定 1，長時間測定

長時間連続保定中は前述の付属の餌，給水装置により、

サルは自主的に水、餌の摂取が可能となった。また、実験者に対する防護壁は測定を行わない間設置しなかった。覚醒下眼圧測定中カニクイサルが実験者および実験に対して抵抗を示さなくなるには、個体差のあるものの、約12週間を要した。

長時間眼圧測定の結果、午前10時以降に眼圧はいったん下降し、その後上昇、午後2時以降徐々に下降する日内変動が観察された(一元配置分散分析： $p < 1 \times 10^{-14}$ ) (表4)。また、測定開始の午前10時の眼圧に比べ、午後4時以降の眼圧は低い値を示した(LSD検定： $p < 0.000001 \sim 0.01$ )。各測定時間における左右の眼圧の相関係数は、表5に示すように高い相関を示した。

### 実験3：眼圧測定2、再現性の検討

実験2から1週間後の午後6, 8, 10時での眼圧は表4に、再現性指数は表6に、2週間後の午後8, 10時での

眼圧は表4に、再現性指数は表7に示した。いずれも再現性指数は3.5~8%であった。

## IV 考 按

身体保定装置は、実験動物の種別、保定部位、体位、実験の遂行上の目的により様々である<sup>1)</sup>。保定装置の利点は、覚醒下、非覚醒下において実験の施行が容易に行える点である。身体の保定だけであるなら麻酔による鎮静化でも可能ではあるが、麻酔の影響が実験結果に反映されることが予想され<sup>3)-10)</sup>、実験の目的により非覚醒下で行うべき実験もある。霊長類の場合、人類と生態的に類似することが多く、その実験ならびに実験結果は非常に重要である。さらに、霊長類の実験系においては、手術など、もしくは動物に対する苦痛が考えられる場合を除いては覚醒下の実験が好ましく、他科においても Monkey chair と総称される身体保定装置が汎用されている<sup>1)-4)11)</sup>。

Monkey chair の多くは、採血、血圧測定などの長期観察が必要な実験に用いられることが多く、その安定性、実用性は周知の通りである。しかしながら、実験対象が眼球である眼科学の場合、既存の装置で行うことは多くの場合困難である。過去に眼科学の実験用のサル身体保定装置についての報告はあるが、単一の実験に対する目的のためにのみ試作されており<sup>3)4)</sup>、眼光学的測定を含めた多

表3 サル眼球測定結果

	右	左
眼軸長 (mm)	18.1±1.0	18.0±1.0
屈折力 (D)	-2.3±3.1	-2.21±3.1
強主経線 (D)	56.4±1.0	57.0±0.9
弱主経線 (D)	56.0±1.1	56.0±0.9

平均値±標準偏差 (n=8)

表4 覚醒下眼圧測定結果

測定時間	午前 10:00	11:00	12:00	午後 1:00	2:00	4:00	6:00	8:00	10:00
第1回目 測定 (mmHg)	16.8 ±2.1	16.2 ±1.7	16.1 ±1.7	16.3 ±1.6	16.6 ±2.1	15.8 ±2.0	15.4 ±2.4	14.1 ±2.0	13.3 ±2.2
1週後測定 (mmHg)							14.4 ±0.9	13.9 ±2.1	13.0 ±1.5
2週後測定 (mmHg)								14.4 ±1.6	13.1 ±2.0

長時間眼圧における午前10:00との比較

LSD検定

\*:  $p < 0.01$ , \*\*:  $p < 0.001$ , \*\*\*:  $p < 0.000001$

平均値±標準偏差 (n=16)

表5 各測定時間の左右眼圧相関結果

測定時間	午前 10:00	11:00	12:00	午後 1:00	2:00	4:00	6:00	8:00	10:00
左右間の 相関係数	0.93	0.9	0.92	0.96	0.97	0.97	0.95	0.97	0.97

表6 1週後眼圧再現性指数結果

測定時間	再現性指数 (%)*
18:00	6.5±4.9
20:00	3.6±5.4
22:00	6.9±6.7

\*: 平均値±標準偏差 (n=16)

再現性指数については本文参照

表7 2週後眼圧再現性指数結果

測定時間	再現性指数 (%)*
20:00	7.0±6.9
22:00	8.2±7.6

\*: 平均値±標準偏差 (n=16)

様な眼科学的実験が可能な身体保定装置の報告はない。今回、我々が試作した Monkey chair を使用したところ、カニクイサルに対して、実験中に長時間身体を強固に拘束された場合のストレスの指標となるとされる口舌の潰瘍なども認めず<sup>2)</sup>、さらに、眼軸長、屈折力および眼圧の長時間測定を十分容易に行えた。また、体格の差がある程度までなら調節が可能となる装置の工夫を加えることにより、対象とした 3.0~6.5 kg の大小異なるカニクイサルの保定を無理なく行うことができた。

覚醒下におけるカニクイサルの眼圧測定に関する報告は Hahnenberger<sup>12)</sup>が mini field applanation tonometer を用いて、連続眼圧測定は Flower ら<sup>13)</sup>が強膜壁に眼圧測定のための圧力センサーを手術的に埋め込むことにより報告している。その後、同様の報告はなく、現在カニクイサルなどの霊長類の眼圧測定に関する報告はほぼ塩酸ケタミン(ケタラール®)による鎮静下もしくは全身麻酔下で行うことが多い<sup>14)15)</sup>。この理由は、塩酸ケタミン(ケタラール®)は眼圧に対する影響が少ないと報告<sup>5)6)</sup>されており、また、筋肉内注射が可能であるため、麻酔時の呼吸管理が容易で、反復使用による安全性が高く、毒性が低いことなどによる<sup>7)8)</sup>。

全身麻酔もしくは鎮静を行わない条件下での眼圧測定は、測定者、または対象となるサルの長期にわたる訓練が必要であり、実験準備期間が長期に及ばざるを得ない。しかし、霊長類は一度学習を完了すれば、眼圧測定ならびにその他の実験においても十分な再現性を示すことが報告<sup>12)</sup>されており、麻酔薬の全身作用影響を加味することなく、実験を行うことが可能である。今回の我々の実験においても、覚醒下での眼圧測定の際、実験者に対して抵抗を行わなくなるまでに必要とした期間は、個体差がみられるものの、約3か月ほどであり、ほぼ Hahnenberger<sup>12)</sup>の報告と一致した。しかし、Hahnenberger の報告は片眼の測定のためのトレーニングを行い、保定に関しては Monkey chair を使用せず、実験助手が革製のサル捕獲用手袋を装着し、サルの両手を捕捉する保存方法を行い、測定者と合わせ実験に2名以上の人員が必要としている。さらに、サルの保定助手はサルの実験に対する熟練者が行ったとしている。今回我々の作製した Monkey chair は、鎮静を行っていない状態の保定に関しては2名で行うことが安全上望ましいが、眼圧測定に関しては1名で十分可能であった。

今回の我々の結果では、測定開始の午前10時に比べ12時間後では約3.5 mmHgの低下がみられ、日内変動があると考えられた。このことを考慮に入れた場合、眼圧の変動に対する作用を有する薬剤を使用する場合、その効果を測定開始時刻からの眼圧差を用いて検討することは判定上問題があると考えられる。つまり、同一サルの base line となる眼圧を十分測定し、再現性を確認し、同一時刻の同一眼との眼圧変動の比較を行うか、または

fellow eye の眼圧を使用して検討すべきであると考えられた。しかし、fellow eye との比較を行う場合、両眼性に作用がみられるβブロッカー点眼剤などの検討には不向きであると考えられる。また、眼圧日内変動にサルの調子、緊張が影響を与えた可能性は0ではないが、十分にトレーニングを行うことにより、また実験者に対する慣れにより、そのような影響は最小限に抑えられたと考えられる。また、良好な再現性が得られたこともそれを指示すると思われる。

今回試作した Monkey chair は覚醒下、非覚醒下における眼科学的実験に十分に適応し、長時間の保定に対して十分な再現性を持つ眼圧の測定を安全に行うことが可能であり、霊長類に対する実験において十分実用的であると考えられた。

## 文 献

- 1) 日本実験動物協会編：実験動物の基礎と実際。各論 198—220, 丸善, 東京, 1989.
- 2) 並木正義, 上原 聡：ストレスと消化性潰瘍。日内会誌 80: 3—8, 1991.
- 3) 酒井正樹, 二木宏明, 久保田競：慢性状態でニューロン活動を記録するための簡易モンキーチェアの作り方。神経研究の進歩 14: 604—614, 1970.
- 4) 佐藤 宏, 福田尚久, 栗木 久, 牧 良孝, 野村正治, 佐浩美昭, 他：サルの無麻酔下における網膜電図記録法と二, 三の薬物の影響。日薬理誌 76: 581—594, 1980.
- 5) Erickson-Lamt KA, Kaufman PL, McDermott ML, France NK: Comparative anesthetic effects on aqueous humor dynamics in the cynomolgus monkey. Arch Ophthalmol 102: 1815—1820, 1984.
- 6) Hahnenberger RW: Influence of cataleptoid anaesthetic agents on the intraocular pressure in monkeys (macaca fascicularis). Acta Ophthalmologica 54: 491—499, 1976.
- 7) Hickey RF, Pavlin EG, Stanley TH, Shaprio HM, Eger EI, Donlon JV: Anesthesia. In: Miller RD (Ed): New York, Churchill Livingstone, Chap 12, 13, 16, 25, 39. 1981.
- 8) Price HL, Harvey SC, Byck R: The Pharmacological Basis of Therapeutics, ed 5. In: Goodman LS, et al (Eds): New York, Macmillan Publishing Co Inc, Chap 7, 8, 9, 10, 12, 14. 1975.
- 9) Banerjee CM, Alarie Y, Wollar M: Gas tension in conscious monkeys. Proc Soc Exp Biol Med 128: 1183—1185, 1968.
- 10) Munson ES, Gillespie JR, Wagman IH: Respiratory blood gases and pH in two species of unanesthetized monkeys. J Appl Physiol 28: 108—109, 1970.
- 11) Mathew L, Purkayashha SS, Malhotra MS: Cold-induced vasodilatation response at different water bath temperatures in monkeys. Aviation, Space, and Environmental Medicine: August: 976—979, 1978.

- 12) **Hahnenberger RW**: Applanation tonometry in the conscious cynomolgus monkey (*macaca fascicularis*). *Acta Ophthalmologica* 54: 311—319, 1976.
  - 13) **Flower RW, Maumenee AE, Michelson EA**: Long-term continuous monitoring of intraocular pressure in conscious primates. *Ophthalmic Res* 14: 98—106, 1982.
  - 14) **Kaufman PL, Davis GE**: Minified Goldmann applanation prism for tonometry in monkeys and humans. *Arch Ophthalmol* 98: 542—546, 1980.
  - 15) **Lee PY, Podos SM, Serle JB, Camras CB, Severin CH**: Intraocular pressure effects of multiple doses of drugs applied to glaucomatous monkey eyes. *Arch Ophthalmol* 105: 249—252, 1987.
-