

^{22}Na と ^{125}I Iothalamate の同時測定 による間質液の水分移行過程

田中義文* 橋本 悟* 重見研司*
夏山 卓* 宮崎正夫*

要 旨

^{22}Na と ^{125}I Iothalamate の血中濃度減衰曲線より血液間質間の拡散過程を解析した。また乳酸加リンゲル液の循環血の漏出過程を検出し、生体全体での毛細血管床の水分ろ過係数を求めた。その結果、間質は均一の分画ではなく、血漿 52 ml/kg、血管周囲自由層 63.4 ml/kg、とゲル層 84.6 ml/kg により構成される3分画モデルが最も良い回帰を示した。また、水溶性物質の拡散速度は水分ろ過速度の17倍であり、分時血漿拍出量の25%が水溶性物質の拡散に寄与していることが明らかになった。本論文で示されている物質輸送の各パラメーターが各種薬剤の血中濃度を解析するうえでの基礎資料になれば幸いである。

はじめに

近年、各種薬剤の血中濃度が測定されるようになり、その pharmacodynamics および pharmacokinetics が報告されるようになってきた。しかし、今までに報告されてきた血中薬剤濃度は変動幅が大きく、またモデルの基礎となる体液分画の水分移動過程についての実験理論も確立しておらず、研究者各様のさまざまなシミュレーションモデルが提唱されているのが現状である¹⁾。そこで、われわれは細胞外液量測定のためのトレーサーが静脈内投与された時、体内でどの様な移行速度で循環血と間質とに分布するかを経時的に測

定し、pharmacokinetics のためのモデル解析をおこなった。同時に乳酸加リンゲル液の輸液をおこない血管内外の水分移動モデルのパラメーターを求めた。

方 法

1) 実験プロトコール

実験には平均 20 kg (17.8-22.3 kg) の雑種成犬 8 匹をもちいた。本実験の1週間前に、チオペンタール静脈麻酔下に脾臓と一側の腎臓を摘出した。実験当日、ペントバルビタール (30 mg/kg) を静脈内に投与、気管内挿管後、ハーバードタイプレスピレータでの人工呼吸下に残った腎臓を摘出した。止血目的をも兼ねて切開創は皮膚まで縫合した。腎摘術終了2時間後に、再び両側大腿動静脈を切開、一側の動静脈に血圧測定用のカテーテルを挿入し、他側の動静脈には体外シャントを作り、2インチ NaI 井戸型ガンマー線検出装置と血液電気伝導度法によるヘマトクリット連続測定装置とを装着した(図1)^{2),3)}。5000単位のヘパリンを投与し、実験を通じてヘパリンとペントバルビタールの追加投与を行った。10 ml の血液を採血し、血漿蛋白濃度とヘマトクリットの測定を行い、また、 ^{51}Cr (25 μCi) で赤血球をラベルした。止血が完了した時点で、5 μCi の ^{22}Na を静脈シャントより投与、その30分後に 100 μCi の ^{125}I Iothalamate を投与、続いて30分後に ^{51}Cr 赤血球を投与し、それぞれの核種の血中消退過程を測定した。 ^{51}Cr 赤血球投与30分後に 2 ml/kg/min の速度で乳酸加リンゲル液を10分間静脈内に投与

*京都府立医科大学麻酔学教室

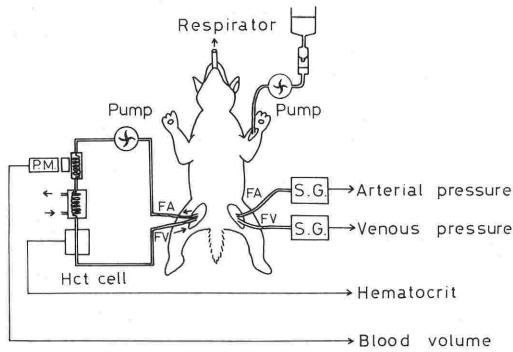


図1 実験システム：右大腿動脈より 40 ml/min の速度で脱血を行い、ガンマーカウンター、血液保温装置、電気伝導度法によるヘマトクリット検出装置を介して右大腿静脈より還血する。左大腿静脈には血圧トランスデューサーを装着し、左前腕静脈より輸液を行った。

した。70分間隔で繰り返し輸液をおこない、3例については2回、残りの5例については3回の輸液負荷のデータを得た。

なお、3種類の核種を同時計測するために、放射エネルギーレベルコンパレータと計数装置をそれぞれ LM 311 OP アンプと汎用 16 Bits Counter で自作し、TMS 9900 マイクロコンピュータをもちいて30秒間隔でオンライン計測させた。また実験に先立ち、各核種のクロスカウントを測定し、3元連立方程式を解くことによりそれぞれの核種のカウント値を補正した。

2) トレーサーの過渡解析について

²²Na と ¹²⁵I Iotharamate は ECF には分布するが細胞内には取り込まれず、代謝されることはない。そのために循環血に投与された核種は脈管内の分画にまず分布し、その後毛細血管壁を通して間質に分布する。それぞれの分画が均一なものであると仮定し、またトレーサーの移行速度は濃度勾配に比例すると仮定する。トレーサーの血漿内濃度を y_1 、間質内濃度を y_2 、血漿量を v_1 、間質量を v_2 、血漿間質間のトレーサーの移行速度を k 、時間を t で示すと、2分画濃度の時間変動は、

$$dy_1/dt = -k * (y_1 - y_2) / v_1$$

$$dy_2/dt = k * (y_1 - y_2) / v_2$$

の微分方程式で示され、血中濃度は $y_1(t) = A_1 * \exp(-B_1 * t) + A_2$ の方程式に回帰される。

また間質内でトレーサの移行速度が異なる場

合、血管周囲自由水層とゲル層とに分離され、3分画モデルで表される。トレーサーの血漿内濃度を y_1 、間質自由水層内濃度を y_2 、ゲル層内濃度を y_3 、血漿量を v_1 、間質自由水量を v_2 、ゲル量を v_3 、血漿自由水間のトレーサーの移行速度を k_1 、自由水ゲル間の移行速度を k_2 、時間を t で示すと、モデルは

$$dy_1/dt = -k_1 * (y_1 - y_2) / v_1$$

$$dy_2/dt = (k_1 * (y_1 - y_2) - k_2 * (y_2 - y_3)) / v_2$$

$$dy_3/dt = k_2 * (y_2 - y_3) / v_3$$

で示され、血中濃度は $y_1(t) = A_1 * \exp(-B_1 * t) + A_2 * \exp(-B_2 * t) + A_3$ の方程式に回帰される。回帰方程式の係数とモデルの分画容量および移行速度定数は複雑な数式関係となるが、実験で求められる衰退曲線と回帰方程式を Runge-Kutta-Gill 法による微分方程式の数値解法と Damping Gauss-Newton 法による最小二乗法を組み合わせることにより、直接微分方程式の係数を算出した⁴⁾。

3) 輸液による循環血の変動について

血液量は ⁵¹Cr ラベル赤血球のカウントより Fick の原理で算出した。またヘマトクリット値より赤血球量と血漿量を算出した。輸液による循環血の水分移動については Starling の末梢循環の法則を用いたが、提唱されている毛細血管や間質での静水圧や膠質浸透圧を whole body で求めることは出来ない。そのためコンプライアンスの概念をもちいて各分画に蓄積された水分量より圧力の変化量を求め、Starling の方程式に代入した。基本となる脈管コンプライアンスについては Shoukas and Sagawa が発表している Whole body vascular compliance 2.0 ml/mmHg/kg を引用し⁵⁾、トレーサー衰退曲線と同じく二分画もしくは三分画の水槽モデルによるシミュレーションでモデルのパラメーターを求めた⁶⁾。

結 果

1) 実験の全過程でのアイソトープカウントの変動

図2に典型的な実験例を示す。Aではガンマーカウンターでの各チャンネルの値を直接描き、Bに各チャンネルの相互干渉を3元連立方程式で取り除き、各核種の独立成分を描いた。²²Na および ¹²⁵I Iothalamate は投与後、すぐさま血中濃度

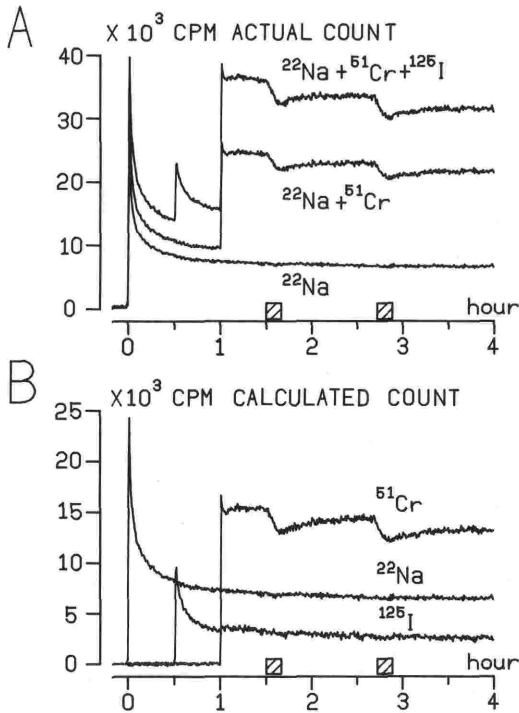


図2 A: ^{22}Na , ^{125}I Iothalamate, ^{51}Cr 赤血球を30分間隔で投与したときの血中濃度を示す。横軸の傾斜部分は10分間の輸液負荷を示す。Radio activity は $\text{I} < \text{Cr} < \text{Na}$ の順に高くなるために Cr チャンネルは Na の activity が加算され、I チャンネルには Cr と Na が加算されている。B: クロスカウントについて3元連立方程式を解くことにより、それぞれの独立した Radio activity を得ている。

が減衰しはじめ、1時間程度で ECF 全体に分布する。 ^{51}Cr ラベル赤血球によるカウントは投与後5分以内に定常値に安定した。斜線のブロックは20 ml/kg の乳酸加リンゲル液を10分間で静脈内投与していることを示す。 ^{51}Cr カウント値はリンゲル液の投与により低下するが、投与を終了すると上昇を始める。しかし輸液終了後30分でカウントの回復は停止し、投与前の値にまで戻らなかった。これは輸液により循環血液量の増加を示し、輸液終了後1時間経過しても循環血液量はある程度増加したまま維持されることを示している。 ^{22}Na と ^{125}I 値は輸液によりほとんど変化を示さなかった。これは輸液により ECF 全体として水分量が増加しカウントが低下する要素とヘマトクリットが減少するためにサンプルチューブ内での血漿容量が増加する要素が相殺しあった結果である。

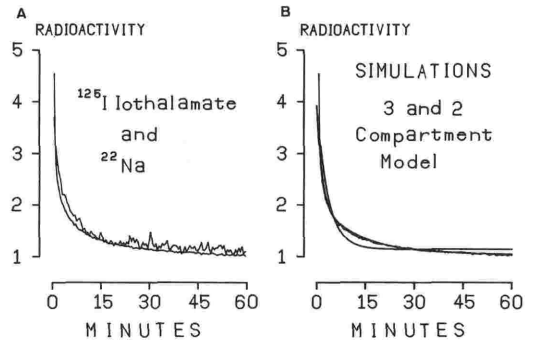


図3 A: ^{125}I Iothalamate と ^{22}Na との60分目の値で正規化された消退曲線を示している。 ^{125}I のカウントが低いために変動が大きいが消退曲線はほぼ同様の時間経過である。B: ^{22}Na の消退曲線と2分画および3分画モデルのシミュレーション結果を示す。2分画モデルでは10分目より20分目までが低く算出され、また45分目より60分目までが高くと算出されるが、3分画モデルでは、実測値に良く回帰されたモデル解が得られた。

2) ^{22}Na および ^{125}I Iothalamate の衰退曲線の fitting について

図3左図に8例の ^{22}Na および ^{125}I の減衰曲線の平均値を示す。各実験によりトレーサーの使用量が異なり、また体重あたりの間質量も変動するため、60分目の値を1に正規化している。 ^{125}I のラジオアクティビティーは ^{22}Na に比し低いため、クエンチングが生じ S/N が悪くなったが、 ^{22}Na と ^{125}I の減衰曲線は共に同様の経時変化を示した。右図は ^{22}Na についてのモデル回帰の結果を示す。2分画モデルであるとパラメータの制限が強くとトレーサー投与後5分目より20分目までの回帰は測定値より低くなり、30分目以降は高くなった。一方3分画モデルの場合はほぼ測定値と一致し、回帰の良さが示された。表1に各モデルのパラメータ値と標準偏差を示す。

3) 輸液による循環血液量の増加曲線について

図4は体重あたり 20 ml の乳酸加リンゲル液を10分間で低速輸液した時の血液量の変化を示す。輸液終了時には 13 ml が循環血内に留まり、7 ml すなわち輸液量の35%が間質に移動した。また輸液終了後50分で循環血は定常状態になり、25%の輸液量が循環血中に留まった。輸液負荷を繰り返しても循環血の増加率は常に一定であった。一方、動静脈圧は輸液により極端な上昇を示

表1
モデル1

	Mean		SD
血漿量	5.74	(%/kg)	0.116
間質液量	14.26	(%/kg)	
移行係数	1.13	(%/kg/min)	0.0417
回帰誤差2乗和	3.59×10^{-1}		
全血管容量	2.0	ml/mmHg/kg	
間質容量	6.0	ml/mmHg/kg	
水分ろ過係数	0.32	ml/mmHg/kg/min	

モデル2

	Mean		SD
血漿量	5.20	(%/kg)	0.0183
自由水量	6.34	(%/kg)	0.1809
ゲル水量	8.46	(%/kg)	
血漿自由水移行係数	1.63	(%/kg/min)	0.0337
自由水ゲル移行係数	0.405	(%/kg/min)	0.0136
回帰誤差2乗和	7.9×10^{-3}		
全血管容量	2.0	ml/mmHg/kg	
自由水容量	2.6	ml/mmHg/kg	
ゲル水容量	3.4	ml/mmHg/kg	
血漿自由水ろ過係数	0.38	ml/kg/mmHg/min	
自由水ゲルろ過係数	0.12	ml/kg/mmHg/min	

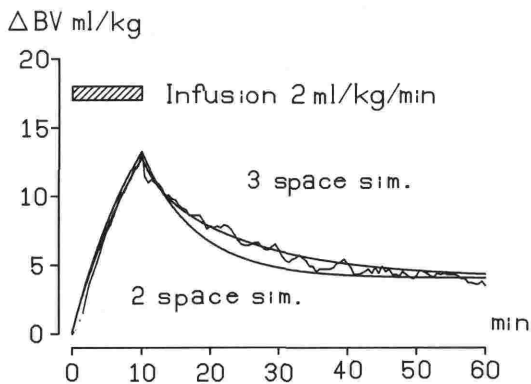


図4 20 ml/kg した時の血液量の変化を示す。輸液終了時には 14 ml/kg が循環血に留まるが60分後 5 ml/kg が循環血に留まるに過ぎない。2分画モデルでは20分目より40分目のシミュレーションが合わないが、3分画モデルでは良い回帰が得られている。

な曲線は減衰曲線の解析で用いたモデルと同様、水分移動についてのシミュレーションを示している。2分画モデルであれば20分より30分目までの実測値との回帰は悪く、3分画モデルにより満足のいくシミュレーションができた。これらのパラメータを表1に示した。

考 察

われわれが開発した循環血液量の連続測定法は採血操作が不用であり、また測定時間もコンピュータオンラインにより正確であるため、測定誤差2%以内で血液量の変化を検出することができる²⁾。その結果、循環血に投与された乳酸加リンゲル液の血管床よりの漏出を信頼できる精度で測定することができた。また今回 ²²Na および ¹²⁵I Iothalamate の間質に拡散する物質も同時測定できたため、単に net としての水分移動を定量化するのみならず、毛細血管床での物質拡散のダイナミックスも明らかになった。毛細血管床での物質輸送の問題を Starling の末梢循環則でもちいて

し、脈拍も低下した。そのために3例については3回目の輸液負荷中に心停止となり、4回の輸液負荷に耐える実験例は無かった。図4のスムーズ

考察する時、問題となる変数のうち血漿膠質浸透圧については測定出来るものの、それ以外のパラメーターである毛細血管圧、間質圧、間質浸透圧について Whole body の実験で測定することは困難な点である。そこで、従来より重量法や静水圧測定法により解析が試みられてきたが、限界があり、本論文ではこれらと異なった解析手段をもちいて末梢循環での物質移動についての考察を行った。

ある分画をはさんで物質が移動する場合、移動過程は物質の分画間のポテンシャルの差に比例すると考えるのは妥当である。そのポテンシャル(実験式では y と表記している)は溶質に注目するなら溶質濃度になり、溶媒である水分に注目すると各分画での圧力となる。また実験式 k と表記されている比例定数は、溶質移動過程であればディメンションは ml/kg/min となり、毛細血管床での血流が非常に早い場合は PS すなわち permeability と毛細血管床表面積の積に一致するが、血流速度が遅い場合は血流速度に比例した値となる⁸⁾。水分移動過程であれば与式は Starling の式そのものであって水分ろ過係数 k_f に一致する⁶⁾。さて図3より ^{22}Na と ^{125}I Iothalamate の減衰曲線はほぼ同様の時間経過であった。このことはこれらの物質の毛細血管壁での移行過程がほぼ同様であることを示した。Na および Iothalamate の分子半径はそれぞれ 2.3A, 15A 程度であり、40A の細孔をもつ毛細血管壁では拡散速度に差が生じなければならない。すなわち自由拡散係数は分数量のほぼ1/3乗に比例して減少すると述べられている^{7), 8)}。しかし、これらの分子量の差では移動過程に差が生じなかったことは方程式の移行係数は各トレーサーの permeability ではなく毛細血管での血流速度で制限を受けた値(クリアランス)を示したことになる。またこの現象は Pappenhimer⁷⁾ や Renkin⁸⁾ の組織灌流の測定結果とも一致する。減衰曲線のモデル回帰は図3に示すように2分画では始めの15分間では低くなり、終わりの15分間では高く回帰した。一方3分画モデルではほぼ測定データと一致した。このことは間質が均一の分画ではなく、溶質移動の容易な部分(63.4 ml/kg)と困難な部分(84.6 ml/kg)とに2分されていることが示されている。溶質移動の容易な部分とは毛細血管に接している間質を

示している。Starling の仮説では、毛細血管壁の動脈側より血漿の水分が浸出し、静脈側でその吸収が仮定され、成書⁹⁾ではこの水分移動の1/20がリンパ還流になり、残りの19/20が静脈側で再吸収がなされると述べられている。リンパ流量は成人で4 l/day であるから、毛細血管周囲では80 l/day の水分が入り出す。体重を60 kg と仮定すると0.925 ml/kg/min の水分移動が毛細血管壁で生じることになる。3分画モデルでの溶質の血漿自由水移行係数は16.3 ml/kg/min であり水分移動の速さの18倍にあたる。溶質の流れは、拡散による流れと溶媒牽引による流れと電気泳動の総和である。Iothalamate は電価を持たない。投与した ^{22}Na は微量であるために電気泳動の作用は無視できる。したがってこれらの溶質移動は生体全体では水分移動の17倍の速さで拡散すると考えられる。また、心拍出量は100 ml/kg/min であり、ヘマトクリットを35%とすると65 ml/kg/min の血漿量が毛細血管床を通過する。この値をもちいると、生体全体では水溶性物質の拡散速度(クリアランス)は毎分拍出される血漿成分の25%になる結果が導き出される。

Starling の式では各分画での4変数の圧と水分透過性が決定されなければ移動した水分量を算出することは出来ない。本実験では移動した水分については正確なデータがえられているが、4変数を全て求めている訳ではない。しかし、輸液実験を繰り返しても常に輸液量に対する増加率は一定であったことから、毛細血管床での水分移動仮定は線形微分方程式で説明可能である。そこで、各分画における静水圧-膠質浸透圧を水分移動に対するポテンシャルとして用いると、Starling の式は実験方法で述べた微分方程式と一致する。またコンプライアンスの概念を用いると、各分画の水分増加量よりポテンシャルの増加量を求めることが出来る。シミュレーションの結果、2分画モデルでは図4に示すように20分目より40分目までの血液量の変化が計算され実験値と合わないが、3分画モデルであれば実験値と一致した。脈管コンプライアンスは Guyton の提唱した mean systemic pressure と血液量との変化率より求められ、Shoukas and Sagawa⁵⁾によりこの値が求められたが、我々はこの値を元にして Whole body での水分ろ過係数を求め、また各間質での

コンプライアンスを求めた。水分ろ過係数は Pappenheimer らが筋肉の灌流実験で求めた値とほぼ一致するところから、今回求めたパラメーターについての信頼性は高いと考えられる。

本実験では対外シャント法をもちいて複数のトレーサーを同時連続測定することにより水分移動に関する多くの情報を得ることができた。またこれらのデータをもちいて微分方程式の各係数の算出にあたり、解析解を求めることなく、カーブフィティング法により求める事ができた。同時に毛細血管床での水分ろ過係数と permeability を求めることができ、間質について機能的な分離分画を行うことができた。この2つの分画についての解剖学的検索は今後の問題ではあるが、本パラメータの値が今後の各薬剤の Pharmacokinetics の基礎資料になれば幸いである。

引用文献

- 1) Hull, C. J.: General Principles of Pharmacokinetics in Pharmacokinetics of Anaesthesia ed. C. Prys-Roberts and C. C. Jr. Blackwell Scientific Publication 1984.
- 2) Tanaka, Y., Morimoto, T., Miki, K., Nose, H. and Miyazaki M.: On-line control of circulating blood volume. *Jpn. J. Physiol.* **31**:427-431, 1981.
- 3) Tanaka, Y., Morimoto, T., Watari, H. and Miyazaki, M.: Continuous monitoring of circulating blood hematocrit. *Jpn. J. Physiol.* **26**: 345-353, 1976.
- 4) 山岡 清: マイコンによる薬物体内動態解析法. 南江堂, 1984.
- 5) Shoukas, A. A. and Sagawa, K.: Total systemic vascular compliance measured as incremental volume-pressure ratio. *Circ. Res.*, **28**:277-289, 1971.
- 6) Tanaka, Y.: Whole body transvascular filtration coefficient and interstitial space capacitance. *Jpn. J. Physiol.* **29**:181-193, 1979.
- 7) Pappenheimer, J. R.: Filtration, diffusion and molecular sieving through peripheral capillary membranes. A contribution to the pore theory of capillary permeability, *Am J. Physiol.* **167**:13-46, 1951.
- 8) Renkin, E. M.: Transport pathways through capillary endothelium. *Microvasc. Res.* **15**: 123-135, 1978.
- 9) Guyton, A. C., Taylor, A. E. and Granger, H. J.: Analyses of pressure equilibria in tissue spaces equilibria at tissue surfaces and at membrane pores. in *Circulatory Physiology II*. W. B. Saunders Company, Philadelphia., 1975.

Analysis of Sodium and Iothalamate Diffusion Kinetics Between Vascular Space and Interstitial Fluid Space

Y. Tanaka, S. Hashimoto, K. Shigemi,
T. Natsuyama and M. Miyazaki

Department of anesthesiology, Kyoto Prefectural
University of Medicine, Kawaramachi Hirokoji
Kamikyo-ku Kyoto 602, Japan

The transvascular diffusion kinetics of lipidinsoluble substances and the fluid exchange in whole body was analyzed from the measurement of ^{22}Na and ^{125}I Iothalamate decay curves and blood volume change consequent to the infusion of Lactate Ringer's solution. Decay curves of i. v. injected Iothalamate and Na were almost similar in spite of the difference of their molecular size, and their decay curves were in good agreement with three compartment model. Calculated plasma volume, perivascular interstitial free fluid space and interstitial gel space were 52.0, 84.6 and 163 ml/kg respectively. Diffusion constant was 16.3 ml/kg/min between plasma and free fluid

space, and 4.05 ml/kg/min between free fluid and gel spaces. The blood volume change was also in good agreement with three compartment model, and compliance of vascular, free fluid and gel spaces were 2.0 ml/mmHg/kg, 2.6 ml/mmHg and 3.4 ml/mmHg respectively. The capillary filtration coefficient determined on the whole body was 0.38 ml/kg/mmHg/min and that between free fluid and gel spaces was 0.12 ml/kg/mmHg/min. The calculated diffusion rate of tracers was approximately 25% of plasma plasma flow and 17 times of convective fluid shift through the capillary walls.